

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
CD31, Endothelial Cell
Klon JC70A
Ready-to-Use
(Link)

Kode IR610

Tilsiktet bruk

Til in vitro-diagnostisk bruk.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD31, Endothelial Cell, klon JC70A, Ready-to-Use, (Link) er beregnet til bruk i immunhistokjemi sammen med Autostainer Link-instrumenter. Dette antistoffet merker primært endotelceller og er nyttig for påvisning av benigne og maligne vaskulære sykdommer inkludert angiosarkomer (1, 2). Antistoffet er i tillegg nyttig for merking av kar under påvisning av angiogener i forskjellige tumortyper (3–5). Den kliniske tolkningen av farging eller fravær av den skal komplementeres av morfologiske studier med riktige kontroller og bør evalueres i konteksten av pasientens kliniske historikk og andre diagnostiske tester av en kvalifisert patolog.

Synonymer på antigen

PECAM-1 (blodplate/endotelcelle adhesjon molekyll 1) (6)

Sammendrag og forklaring

CD31 er et enkelt kjedetype 1 transmembran-protein med en molekylær masse på ca. 135 kDa som tilhører immunoglobulin-superfamilien. I humant serum er alternative skjøtete versjoner av CD31 påvist inkludert en type som tilsynelatende mangler et transmembrant domene, men inkluderer den cytoplasmiske halen (6). CD31 bindes med både homofile bindinger og heterofile bindinger. Heterofile ligander inkluderer heparan sulfat glykosaminoglykan, heparin og integrinet avb3. CD31 utøver en rolle i adhesive interaksjoner mellom tilgrensede endotelceller og også mellom leukocytter og endotelceller. Ligatur av CD31 til overflater på leukocytter resulterer i oppregulering av de funksjonelle leukocyt-integriner, og leukocyt diapedese over endotelium fremmer homofile CD31 interaksjoner. I tillegg har heterofil CD31-interaksjon en separat rolle i migreringen av monocytter over subendotelial basal-lamina (6).

CD31 vises på alle sammenhengende endotel, inkludert de fra arterier, arterioler, venuler, vener og ikke-sinusoidale kapillærer, men vises ikke på usammenhengende endotel i f.eks. splenisk rød masse. CD31 vises i tillegg spredt på overflaten av megakaryocytter, blodplater, myeloide celler, NK-celler og noen undersett fra T-celler og også på B-celleforløpere (6).

Se Dakos *General Instructions for Immunohistochemical Staining* eller deteksjonssysteminstruksjoner for IHC-prosedyrer for: 1) Prosedyreprinsipp, 2) Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med, 3) Oppbevaring, 4) Prøveklargjøring, 5) Fargingsprosedyre, 6) Kvalitetskontroll, 7) Feilsøking, 8) Tolkning av farging, 9) Generelle begrensninger.

Reagens som følger med

Monoklonalt antistoff av mus klart til bruk, følger med i flytende form i buffer som inneholder stabiliserende protein og 0,015 mol/L natriumazid.

Klon: JC70A (1). Isotype: IgG1, kappa.

Immunogen

Cellemembranpreparering fra milt fra en pasient med hårcelleleukemi (1).

Spesifisitet

Anti-Human CD31, Endothelial Cell, klon JC70A, ble dyrket som anti-CD31 ved Fifth International Workshop and Conference på humane leukocyt differensierte antigener (7). Den gjenkjente epitopen ble påvist innen det ekstracellulære domenet 1 (6).

I Western blotting-analyse av membranpreparering fra milt rik på antigen eller fra normale blodplater, merker antistoffet bindinger av 100 kDa og 130 kDa, den siste tilsvarer klassisk CD31. Den mindre bindingen av 100 kDa som ble påvist med splenisk preparering, kan skyldes proteolytisk kløyving eller variasjoner i glykosylasjon (1).

Forholdsregler

1. For profesjonelle brukere.
2. Dette produktet inneholder natriumazid (NaN₃), en svært giftig kjemikalie i ren form. Selv om det ikke klassifiseres som farlig ved produktkonsentrasjonene, kan natriumazid reagere med bly- og kopperrør og danne metallazider som bygger seg og som er svært eksplosive. Ved avhending, skyl med rikelig med vann for å forhindre ansamling av metallazid i rørene.
3. Riktig håndteringsprosedyrer bør brukes i likhet med alle andre produkter derivert fra biologiske kilder.
4. Bruk egnet personlig verneutstyr for å unngå kontakt med øyne og hud.
5. Ubrukt løsnings skal avhendes i henhold til lokale og statlige forskrifter.

Oppbevaring

Oppbevar ved 2–8 °C. Må ikke brukes etter utløpsdatoen som er stemplet på flasken. Hvis reagensene oppbevares under andre forhold enn de som er spesifisert, må forholdene verifiseres av brukeren. Det er ingen tydelige tegn som indikerer at dette produktet er ustabil. Derfor bør positive og negative kontroller kjøres samtidig med pasientprøver. Hvis det observeres uventet farging som ikke kan forklares med variasjoner i laboratorieprosedyrer og det er mistanke om at det er et problem med antistoffet, ta kontakt med Dakos tekniske avdeling.

Prøveklargjøring inkludert materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

Antistoffet kan brukes til å merke formalinfikserte, parafininnstøpte vevsnitt. Vevprøver skal skjæres i snitt på ca. 4 µm. Forbehandling med varmeindusert epitophenting (HIER) er påkrevet. Optimale resultater oppnås ved å forbehandle vev med EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x) (Link) (kode K8002/K8004).
Avparafiniserte snitt: Forbehandling av avparafiniserte, formalinfikserte, parafininnstøpte vevsnitt anbefales med Dako PT Link (kode PT 100/PT 101). For detaljer, se bruksanvisningen for PT Link.
Følg forbehandlingsprosedyren som står i pakningsvedlegget for EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x) (Link) (kode K8002/K8004). Følgende parametre skal brukes til PT Link: Forvarmingstemperatur: 65 °C; epitophentingstemperatur og tid: 97 °C i 20 (±1) minutter; kjøll ned til 65 °C. Skyll snitt med fortynt EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x) (Link) (kode K8002) ved romtemperatur.
Parafininnstøpte snitt: Som alternativ prøveklargjøring kan både avparafinering og epitophenting utføres i PT Link med en modifisert prosedyre. Se bruksanvisningen for PT Link for instruksjoner. Når fargingsprosedyren er fullført, må snittene tørkes ut, renses og monteres med permanent monteringsmedium.
Vevsnittene bør ikke tørke ut under behandlingen eller under følgende immunhistokjemisk fargingsprosedyre. Det anbefales å bruke Dako Silanized Slides (kode S3003) for bedre adhesjon av vevsnittene til objektglassene.

Fargingsprosedyre inkludert materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

Det anbefalte visualiseringssystemet er EnVision™ FLEX+, Mouse, High pH (Link) (kode K8002). Fargingstrinnene og inkubasjonstidene er forhåndsprogrammert i Autostainer Link-programvaren. Se riktig bruksanvisning for Autostainer Link for detaljerte instruksjoner om å laste objektglass og reagenser. Hvis protokollene ikke er tilgjengelige på Autostainer-instrumentet som brukes, ta kontakt med Dakos tekniske avdeling. Alle inkubasjonstrinnene skal utføres ved romtemperatur.
Optimale forhold kan variere avhengig av prøven og klargjøringsmetoder og skal bestemmes av hvert enkelt laboratorium. Hvis den evaluerende patologen ønsker seg en annen fargingsintensitet, kan en Dako applikasjonsspesialist/teknisk servicespesialist kontaktes for informasjon om omprogrammering av protokollen. Sjekk at den justerte protokollens ytelse fortsatt er gyldig ved å kontrollere at fargingsmønsteret er identisk med fargingsmønsteret som er beskrevet under "Utførelseskarakteristika".
Kontrastfarging i hematoksylin anbefales med EnVision™ FLEX Hematoxylin (Link) (kode K8008). Ikke-vandig, permanent monteringsmedium anbefales.
Positive og negative kontroller skal kjøres samtidig med samme protokoll som pasientprøvene. Det positive kontrollvevet skal inkludere kolon og tonsill, og cellene/strukturene skal vise reaksjonsmønstre som beskrevet for dette vevet i "Utførelseskarakteristika" i alle positive prøver. Anbefalt negativ kontrollreagens er FLEX Negative Control, Mouse (Link) (kode IR750).

Tolkning av farging

Celler merket med antistoffet vil hovedsakelig vise membranfarging, med svakere cytoplasmisk farging.

Utførelseskarakteristika









Normalt vev: Antistoffet merker endotelceller innen et bredt spekter av vevstyper, inkludert endotel i renale glomerulære kapillærer og endotel fra vasa vasorum. Antistoffet merker i tillegg megakaryocytter og forekommende plasmaceller i benmarg (1). I colon viste endotelcellene fra store kar en moderat til sterk fargereaksjon, mens B-celler i mantelzone fra tonsiller viste en svak til moderat fargereaksjon.
Abnormalt vev: Antistoffet merker endotelceller i flere typer benigne og maligne vaskulære lesjoner. I 10/10 (1) og 6/7 (2) angiosarkomer merket antistoffet maligne vaskulære endotelceller. Antistoffet merket henholdsvis 17/17 (2) og 3/3 (1) hemangiomer, 3/3 epitel hemangiomer, 1/1 papillær endovaskulær angioendoteliom (2), 3/3 angiofibromer, 2/2 angiokeratomer, 1/1 hemangiopericytom, 1/1 kemodektom, 3/3 atriomyksomer and 2/2 cystisk hygromer (1). I tillegg merket antistoffet endotelceller i tumorvev med angiogener (3–5). I lymfangiomer viste resultatene diskrepans ettersom antistoffet merket henholdsvis 8/8 (2) og 0/4 (1) tilfeller. Det samme gjelder for glomus tumorer hvor 2/2 (1) og 0/7 (2) tilfeller ble merket med antistoffet. Merking ble ikke observert i hvert av tilfellene av lymfoepitelial cyste og pneumatose koli (1). Tilfellene av alle 30 benigne og 4 maligne nerveskjede tumorer, 11 dermatofibromer, 28 dermatofibrosarkom protuberanser, 6 leiomyomer, 3 leiomyosarkomer, 3 store celle fibroblastomer (2), 52 rhabdomyosarkomer, 16 små runde celletumorer, 11 neuroblastomer, 23 Wilms tumorer, 20 retinoblastomer, 13 estesioneuroblastomer og 7 små ikke-kløyvde maligne cellelymfomer var også negative. I tillegg var spindelceller i 17 tilfeller av Kaposi sarkom i sin helhet negative (8).

Referanser

1. Parums DV, Cordell JL, Micklem K, Heryet AR, Gatter KC, Mason DY. JC70: a new monoclonal antibody that detects vascular endothelium associated antigen on routinely processed tissue sections. J Clin Pathol 1990; 43:752–7.
2. DeYoung BR, Swanson PE, Argenyi ZB, Ritter JH, Fitzgibbon JF, Stahl DJ, et al. CD31 immunoreactivity in mesenchymal neoplasms of the skin and subcutis: Report of 145 cases and review of putative immunohistologic markers of endothelial differentiation. J Cutan Pathol 1995; 22:215–22.
3. Engel CJ, Bennett ST, Chambers AF, Doig GS, Kerkvliet N, O'Malley FP. Tumor angiogenesis predicts recurrence in invasive colorectal cancer when controlled for Dukes staging. Am J Surg Pathol 1996; 20:1260–5.
4. Fox SB, Leek RD, Bliss J, Mansi JL, Gusterson B, Gatter KC, et al. Association of tumor angiogenesis with bone marrow micrometastases in breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 1997; 89:1044–9.
5. Giatromanolaki A, Koukourakis M, O'Byrne K, Fox S, Whitehouse R, Talbot DC, et al. Prognostic value of angiogenesis in operable non-small cell lung cancer. J Pathol 1996; 179:80–8.
6. Muller WA. AS9. CD31 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 6th International Workshop and Conference; 1996 Nov 10–14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 362–4.

7. Fornelli CS, George F, Sampol J, van Agthoven AJ. E6.6. Biochemical analysis of endothelial antigens recognized by workshop mAb. In: Schlossman SF, Bousnell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, et al., editors. Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 5th International Workshop and Conference; 1993 Nov 3–7; Boston, USA. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. p. 1791–5.
8. Nicholson SA, McDermott MB, DeYoung BR, Swanson PE. CD31 immunoreactivity in small round cell tumors. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2000; 8:19–24.

Symbolforklaring

 REF	Katalognummer	 2°C – 8°C	Temperaturbegrensning		Brukes før
 IVD	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr		Inneholder nok til <N> tester		Produsent
	Se bruksanvisninger	 LOT	Partikode		