

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
BCL6 Protein
Clone PG-B6p
Κωδικός M7211**

Προβλεπόμενη χρήση

Για in vitro διαγνωστική χρήση.

Το Monoclonal Mouse Anti-Human BCL6 Protein, Clone PG-B6p, προορίζεται για ανοσοϊστοχημική χρήση (IHC). Αυτό το αντίσωμα επισημαίνει κύτταρα που εκφράζουν την πρωτεΐνη BCL6. Τα αποτελέσματα βοηθούν στην ταξινόμηση του χρόνιου λεμφοκυτταρικού λεμφώματος από B-κύτταρα και της οξώδους νόσου του Hodgkin με λεμφοκυτταρική επικράτηση (1). Η διαφορική ταξινόμηση υποβοηθείται από τα αποτελέσματα μιας σειράς αντισωμάτων. Η κλινική ερμηνεία της χρώσης ή της απουσίας χρώσης πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες που χρησιμοποιούν κατάλληλους μάρτυρες και πρέπει να αξιολογούνται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικό παθολόγο. Αυτό το αντίσωμα προορίζεται για χρήση μετά την πρωτογενή διάγνωση του όγκου μέσω συμβατικής ιστοπαθολογίας με τη χρήση μη ανοσολογικών ιστοχημικών χρώσεων.

Περίληψη και επεξήγηση

Το πρωτο-ογκογονίδιο *BCL6* κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη POZ/δακτύλων ψευδαργύρου 92-98 kDa. Μέσω των 6 καρβοξυτελικών μοτίβων δακτύλων ψευδαργύρου που διαθέτει, η πρωτεΐνη BCL6 προσδένεται στις ειδικές ακολουθίες DNA των γονιδίων στόχων, όπου δρα ως καταστολέας της μεταγραφής (2, 3).

Η έκφραση του BCL6 ενδέχεται να είναι ευρέως διαδεδομένη, δεδομένου ότι χαμηλά επίπεδα της πρωτεΐνης ανιχνεύονται σε πολλούς ιστούς. Εντούτοις, υψηλά επίπεδα έκφρασης του *BCL6* παρατηρούνται μόνο σε κύτταρα της B-λεμφοειδούς γενεαλογικής σειράς και στο σκελετικό μυ. Στη B-λεμφοειδή κυτταρική γενεαλογική σειρά, η έκφραση του *BCL6* φαίνεται ότι ρυθμίζεται αυστηρά κατά τη διαφοροποίηση. Ισχυρή έκφραση παρατηρείται κατά προτίμηση στα B-κύτταρα του βλαστικού κέντρου (GC), αλλά όχι στα πλασμακύτταρα, ή στα πρόδρομα B-κύτταρα, στα B-κύτταρα της ζώνης του μανδύα και στα B-κύτταρα μνήμης. Τα νεοπλασματικά αντίστοιχα των B-κυττάρων του βλαστικού κέντρου, στα οποία συγκαταλέγονται τα λεμφώματα Burkitt, τα θυλακίωδη λεμφώματα και τα διάχυτα λεμφώματα από μεγάλα κύτταρα, ενδέχεται να εμφανίζουν επίσης υψηλά επίπεδα έκφρασης *BCL6* (3).

Το *BCL6* ενδέχεται να συμμετέχει σε χρωμοσωματικές αντιμεταθέσεις, στις οποίες η ρυθμιστική περιοχή του γονιδίου *BCL6* αντικαθίσταται από μια ετερόλογη περιοχή, όπως για παράδειγμα μια περιοχή γονιδίων ανοσοσφαιρινών (IG). Η αντικατάσταση του υποκινητή προκαλεί απορρύθμιση της έκφρασης του *BCL6*, με πιθανή συνέπεια την ανάπτυξη λεμφώματος (3). Η αναδιάταξη του *BCL6* είναι μία από τις πιο συνήθεις γενετικές ανωμαλίες σε περιπτώσεις λεμφώματος μη Hodgkin από B-κύτταρα, με ιδιαίτερα υψηλή συχνότητα σε διάχυτα λεμφώματα από μεγάλα κύτταρα (2).

Ανατρέξτε στο εγχειρίδιο *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Γενικές οδηγίες για την ανοσοϊστοχημική χρώση) της Dako ή στις οδηγίες του συστήματος ανίχνευσης των διαδικασιών IHC για: Αρχή της διαδικασίας, Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται, Φύλαξη, Προετοιμασία δείγματος, Διαδικασία χρώσης, Έλεγχος ποιότητας, Αντιμετώπιση προβλημάτων, Ερμηνεία της χρώσης, Γενικοί περιορισμοί.

Αντιδραστήριο που παρέχεται

Μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού που διατίθεται σε υγρή μορφή ως υπερκείμενο κυτταροκαλλιέργειας και μετά από διαπίδυση σε Tris-HCl 0,05 mol/L, pH 7,2, ενώ περιέχει και 15 mmol/L NaN₃.

Κλώνος: PG-B6p (1). Ισότυπος: IgG1, κ.

Συγκέντρωση IgG ποντικού: βλ. ετικέτα στο φιαλίδιο.

Η συγκέντρωση πρωτεΐνης μεταξύ των παρτίδων μπορεί να ποικίλλει χωρίς να επηρεάζει τη βέλτιστη αραίωση. Ο τίτλος κάθε μεμονωμένης παρτίδας συγκρίνεται και ρυθμίζεται προς παρτίδα αναφοράς για να διασφαλιστεί η συνεπής απόδοση της ανοσοϊστοχημικής χρώσης από παρτίδα σε παρτίδα.

Ανοσογόνο

Ανασυνδυσασμένη γλουταθειόνη S-τρανσφεράση (GST) πρωτεΐνη BCL6 που αντιστοιχεί στα αμινοξέα 3-484 της ανθρώπινης πρωτεΐνης BCL6 (1).

Ειδικότητα

Το σύστημα Western των ανοσοκατακρημνισμάτων που σχηματίζονται ανάμεσα σε ολικά κυτταρολύματα κυττάρων Bjab (BCL6+) και κυττάρων EB3 που έχουν υποστεί διαμόλυση με BCL6 και στο αντίσωμα, εμφανίζει ζώνη ~95 kDa που αντιστοιχεί στην BCL6 (1).

Σε σύστημα Western ολικών κυτταρολυμάτων από κύτταρα Bjab και κύτταρα EB3 που έχουν υποστεί διαμόλυση με BCL6 ή σε κύτταρα EB3 που έχουν υποστεί διαμόλυση με μάρτυρες, το αντίσωμα δεν επισήμανε καμία ζώνη, γεγονός που υποδηλώνει έλλειψη αντίδρασης με την αποδιατεταγμένη πρωτεΐνη BCL6 (1).

Προφυλάξεις

1. Για in vitro διαγνωστική χρήση.
2. Για επαγγελματίες χρήστες.
3. Το προϊόν αυτό περιέχει νατραζίδιο (NaN₃), μια χημική ουσία που είναι ιδιαίτερα τοξική σε καθαρή μορφή. Στις συγκεντρώσεις του προϊόντος, παρόλο που δεν έχει ταξινομηθεί ως επικίνδυνο, το νατραζίδιο ενδέχεται να αντιδράσει με τις μολύβδινες ή χάλκινες υδραυλικές σωληνώσεις και να δημιουργήσει ιδιαίτερα εκρηκτικές αναποθέσεις μεταλλικών αζιδίων. Κατά την απόρριψη, ξεπλύνετε με άφθονο νερό για να αποτρέψετε το σχηματισμό μεταλλικών αζιδίων στις σωληνώσεις.
4. Όπως ισχύει για κάθε προϊόν βιολογικής προέλευσης, πρέπει να εφαρμόζονται οι κατάλληλες διαδικασίες χειρισμού.
5. Πρέπει να φοράτε κατάλληλο εξοπλισμό προσωπικής προστασίας για να αποφύγετε την επαφή με τα μάτια και το δέρμα.
6. Όσο διάλυμα δεν χρησιμοποιηθεί, πρέπει να απορρίπτεται σύμφωνα με τους τοπικούς και κρατικούς κανονισμούς.

Φύλαξη

Να φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2-8 °C. Μην το χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο φιαλίδιο. Αν τα αντιδραστήρια φυλάσσονται σε διαφορετικές συνθήκες από εκείνες που προδιαγράφονται, ο χρήστης πρέπει να επαληθεύσει τις συνθήκες. Δεν υπάρχουν εμφανείς ενδείξεις που να υποδεικνύουν την αστάθεια του προϊόντος αυτού. Για το λόγο αυτό, οι θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες πρέπει να εξετάζονται ταυτόχρονα με τα δείγματα ασθενών. Αν παρατηρηθεί μη αναμενόμενη χρώση που δεν μπορεί να ερμηνευτεί από τις διακυμάνσεις των εργαστηριακών διαδικασιών και υπάρχουν υποψίες για πρόβλημα στο αντίσωμα, επικοινωνήστε με το Τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Dako.

Προετοιμασία δείγματος

Τομές παραφίνης: Το αντίσωμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη σήμανση τομών ιστού εγκλεισμένων σε παραφίνη και μονιμοποιημένων σε φορμαλίνη. Απαιτείται προπεξεργασία των αποπαραφινωμένων ιστών με θερμική ανάκτηση επιτόπου. Βέλτιστα αποτελέσματα επιτυγχάνονται με ρυθμιστικό διάλυμα Tris 10 mmol/L, EDTA 1 mmol/L, pH 9,0. Ωστόσο, το Dako Target Retrieval Solution, κωδικός S1700 ή 10 mmol/L ρυθμιστικό διαλύματος κηρικού με pH 6,0 και η προπεξεργασία ιστών με πρωτεϊνάση K δεν ήταν επαρκή. Οι τομές ιστού δεν πρέπει να στεγνώνουν κατά τη διάρκεια της κατεργασίας ή κατά τη διάρκεια της παρακάτω ανοσοϊστοχημικής διαδικασίας χρώσης.

Διαδικασία χρώσης

Τα παρόντα ισχύουν μόνο ως κατευθυντήριες οδηγίες. Οι βέλτιστες συνθήκες ενδέχεται να ποικίλλουν ανάλογα με το δείγμα και τη μέθοδο προετοιμασίας και θα πρέπει να επικυρώνονται ξεχωριστά από το κάθε εργαστήριο. Η απόδοση αυτού του αντισώματος θα πρέπει να διαπιστώνεται από το χρήστη όταν χρησιμοποιείται μαζί με άλλα συστήματα μη αυτόματης χρώσης ή αυτοματοποιημένες πλατφόρμες.

Αραίωση: Το Monoclonal Mouse Anti-Human BCL6 Protein, κωδικός M7211, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε αραιώσεις από 1:10-1:20 όταν εφαρμόζεται σε τομές ανθρώπινων αμυγδαλών, μονιμοποιημένες σε φορμαλίνη και εγκλεισμένες σε παραφίνη, μαζί με εικοσάλεπτη θερμοκή ανάκτηση επιτόπου σε ρυθμιστικό διάλυμα Tris 10 mmol/L, EDTA 1 mmol/L, pH 9,0 και επώαση επί 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου με το πρωτοταγές αντίσωμα. Ο συνιστώμενος αρνητικός μάρτυρας είναι το Dako Mouse IgG1, κωδικός X0931, αραιωμένο στην ίδια συγκέντρωση IgG ποντικού όπως και το πρωτοταγές αντίσωμα. Η σταθερότητα του αραιωμένου αντισώματος και του αρνητικού μάρτυρα πρέπει να προσδιορίζονται κατά την πραγματική διαδικασία χρώσης. Σε διαφορετική περίπτωση, συνιστάται αραιώση των αντιδραστηρίων αυτών αμέσως πριν από τη χρήση ή αραιώση στο Dako Antibody Diluent, κωδικός S0809.

Έλεγχος ποιότητας: Θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες, καθώς και αντιδραστήριο αρνητικού μάρτυρα, πρέπει να αναλύονται ταυτόχρονα με τα δείγματα ασθενών, με χρήση του ίδιου πρωτοκόλλου.

Οπτικοποίηση: Συνιστώνται τα kit Dako EnVision+HRP, π.χ. Κωδικός K4005. Ακολουθήστε τη διαδικασία που εσωκλείεται στο kit οπτικοποίησης που θα επιλέξετε.

Ερμηνεία χρώσης

Τα κύτταρα που σημειώνονται από το αντίσωμα εμφανίζουν διάχυτη/μικροκοκκώδη χρώση, η οποία περιορίζεται στον πυρήνα. Ενδέχεται να παρατηρηθεί κυτταροπλασματική χρώση σε νεοπλασματικά κύτταρα σε μίτωση (1).

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Φυσιολογικοί ιστοί: Στις αμυγδαλές, το αντίσωμα επισημαίνει ισχυρά τους πυρήνες των κεντροβλαστών στη σκοτεινή ζώνη και τους πυρήνες των κεντροκυττάρων στη βασική και στην κορυφαία φωτεινή ζώνη των βλαστικών κέντρων. Επιπροσθέτως, το αντίσωμα επισημαίνει ποσοστό περίπου 10% των T-κυττάρων του βλαστικού κέντρου. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε πλασμοκύτταρα, μακροφάγα, δενδρική θυλακώδη κύτταρα και λεμφοκύτταρα IgD+/IgM+ από τον μανδύα του θυλακίου. Στο σπλήνα, το πρότυπο της χρώσης ήταν παρόμοιο με εκείνο των αμυγδαλών, με την επιπρόσθετη παρατήρηση ότι το αντίσωμα επισημάνει ορισμένα διάσπαρτα ομοιάζοντα με λεμφοειδή κύτταρα απροσδιόριστου φαινοτύπου. Σε μη λεμφοειδείς ιστούς, το αντίσωμα επισημάνει ασθενώς το πλακώδες επιθήλιο των αμυγδαλών, του θύμου και του δέρματος. Δεν παρατηρήθηκε σήμανση στο ήπαρ, το θυρεοειδή, το γραμμωτό μυ και το νεφρό (1).









Παθολογικοί ιστοί: Με το αντίσωμα εξετάστηκαν 173 περιστατικά ανθρώπινων λεμφοειδών νεοπλασμάτων. Από τα λεμφώματα ή τις λευχαιμίες B-κυττάρων, επισημάνθηκαν 24/24 λεμφώματα του κέντρου του θυλακίου, 29/30 διάχυτα λεμφώματα από μεγάλα κύτταρα και 13/13 λεμφώματα Burkitt. Δεν παρατηρήθηκε χρώση σε 7/7 οξείες λεμφοβλαστικές λευχαιμίες από πρόδρομο B κύτταρα, 16/16 χρόνιες λεμφοβλαστικές λευχαιμίες με μικρά λεμφοκύτταρα B, 6/6 λευχαιμίες τριχτών κυττάρων, 22/22 λευχαιμίες κυττάρων του μανδύα και 14/14 λεμφώματα της περιφερειακής ζώνης. Από τα λεμφώματα ή τις λευχαιμίες T-κυττάρων, επισημάνθηκαν 4/8 αναπλαστικά λεμφώματα από μεγάλα κύτταρα, ενώ δεν παρατηρήθηκε επισημάνση σε 10/10 περιστατικά οξέων λεμφοβλαστικών λεμφωμάτων, 3/3 μυκητοειδείς μυκητιάσεις, 6/6 λεμφώματα από περιφερικά T-κύτταρα και 2/2 λεμφώματα από περιφερικά T-κύτταρα (παρόμοια με AILD). Σε περιπτώσεις νόσου του Hodgkin, επισημάνθηκαν 5/5 οξώδεις τύποι με λεμφοκυτταρική επικράτηση, 1/4 οξώδεις σκληρυντικοί τύποι και 1/3 τύποι σύνθετης κυτταρικής (1).

Σε περιστατικά συστηματικού λεμφώματος μη Hodgkin σχετιζόμενου με AIDS, το αντίσωμα επισημάνει 11/11 λεμφώματα από μικρά μη διαιρούμενα κύτταρα, 7/7 λεμφώματα από μεγάλα μη διαιρούμενα κύτταρα (LNCCL) και 2/9 πλασμοκυτταροειδή ανοσοβλαστικά λεμφώματα από μεγάλα κύτταρα (IBLP). Σε πρωτοπαθή λεμφώματα του κεντρικού νευρικού συστήματος που σχετίζονται με AIDS, το αντίσωμα επισημάνει 4/4 LNCCL και κανένα από τα 4 περιστατικά IBLP. Δεν παρατηρήθηκε επισημάνση σε 5 περιστατικά πρωτοπαθούς διασκορπισμένου λεμφώματος (primary effusion lymphoma, PEL) και σε 6 κυτταρικές σειρές από περιστατικά AIDS-PEL (4).

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Flenghi L, Bigerna B, Fizzotti M, Venturi S, Pasqualucci L, Pileri S, et al. Monoclonal antibodies PG-B6a and PG-B6p recognize, respectively, a highly conserved and a formol-resistant epitope on the human BCL-6 protein amino-terminal region. *Am J Pathol* 1996;148:1543-55.
2. Ye BH. BCL-6 in the pathogenesis of non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Invest* 2000;18:356-65.
3. Nakamura Y. Internal deletions within the *BCL6* gene in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2000;38:505-12.
4. Carbone A, Gaidano G, Ghoghini A, Larocca LM, Capello D, Canzonieri V, et al. Differential expression of BCL-6, CD138/syndecan-1, and Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein-1 identifies distinct histogenetic subsets of acquired immunodeficiency syndrome-related non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1998;91:747-55.

Επεξήγηση συμβόλων

 REF	Αριθμός καταλόγου	 2-8 °C	Περιορισμοί θερμοκρασίας		Ημερομηνία λήξης
 IVD	Ιατρική συσκευή in vitro διαγνωστικών εξετάσεων	 LOT	Κωδικός παρτίδας		Κατασκευαστής
	Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης	 EC REP	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα		



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com

Αναθεώρηση 11.2020