

MLH-1

Egér monoklonális antitest

Mob430

Mob430-05

PDM148

PDM148-10MM

Dokumentum #: DS-0301-A

Érvényesség kezdete: 12/01/2014

Immunogén	Klón	Eredet	Izotípus	Antitest oldószér
Teljes hosszúságú rekombináns MLH.	G168-15	Egér	IgG1	K004

Kérésre lot specifikus Ig koncentrációra vonatkozó információ elérhető.

Katalógus #	Leírás
Mob430	1 ml koncentrált antitest Diagnostic BioSystems PolyVue™ Plus - Two Step Detection System előhívó rendszerrel alkalmazásra
Mob430-05	0,5 ml koncentrált antitest Diagnostic BioSystems PolyVue™ Plus - Two Step Detection System előhívó rendszerrel alkalmazásra
PDM148	6 ml előre hígított antitest Diagnostic BioSystems PolyVue™ Plus - Two Step Detection System előhívó rendszerrel alkalmazásra
PDM148-10MM	10 ml vonalkóddal ellátott, előre hígított antitest Diagnostic BioSystems Montage PolyVue™ Plus Auto Detection System és Montage™ 360 Rendszerrel alkalmazásra

Ajánlott felhasználás

In vitro diagnosztikai alkalmazásra. Ez a termék kvalitatív immunhisztokémiai alkalmazásra javasolt ép és daganatos, formalin-fixált, paraffinba ágyazott szövettani metszeteken, fénymikroszkópos értékelésre. A festés eredményének klinikai kiértékeléséhez szükséges a megfelelő szövettani kontrollok alkalmazása. Az eredmények értelmezéséhez a megfelelően képzett személyek felelőssége a páciensek klinikai előzményeinek és egyéb releváns diagnosztikai vizsgálatainak ismerete.

Leírás

A G168-15 antitest felismeri a humán és egér MLH1-et (80-85 kDa). Az idő előrehaladtával a DNS mismatch repair mechanizmus nélkülözhetetlen a genetikai információ integritásának fenntartásához. A mikroszatellit ismétlődések megváltozása a DNS-replikáció során bekövetkező szál-eltolódásból eredő csúszás eredménye, mely jelenség mikroszatellit instabilitás (MSI) néven ismert. Ezek a DNS-repair mechanizmus során bekövetkező hibák összefüggenek a humán carcinogenezissel. A mismatch repair gének jelentősége az örökítő nonpolyposis vastagbélrák (HNPC) genetikai alapjának azonosításával nyilvánvalóvá vált. A MSH-2 részt vesz a replikáció mismatch repair mechanizmusa során a mismatch nukleotidok kezdeti felismerésében. Feltételezik, hogy miután az MSH2 kötődik az MLH1- és PMSH alkotta heterodimerrel kapcsolt mismatch DNS duplexhez, együttesen képesek elősegíteni a későbbi mismatch repair lépéseket.

Formátum

Ez a termék sejttenyészet felülúszó formájában kerül kiszerelésre. Stabilizátorként nátrium-azidot tartalmaz.

Az eljárás elve

Az antigén immunhisztokémiai (IHC) detektálása egy kétféle lépéses folyamat, mely először az antitest antigénhez kötődését, majd a kötött antitest kromogénnel történő láthatóvá tételét foglalja magában. Az elsődleges antitest mind kézi IHC technikával, mind a Diagnostic BioSystems Automata Montage 360™ Staining System festőautomatában alkalmazható.

Az elsődleges antitest hígítása

A Diagnostic BioSystems előre hígított antitestjeinek koncentrációja a Diagnostic BioSystems előhívó rendszerhez optimalizáltak, így további hígításukra nincs szükség. További hígításuk a szenzitivitást csökkentheti. Minden további változtatás validálása a felhasználó felelőssége.

A Diagnostic BioSystems koncentrált antitestjei az ajánlott mértékben hígítandóak, amennyiben a javasolt Diagnostic BioSystems detektáló rendszerrel együtt alkalmazzuk. Bármely egyéb, az ajánlottól eltérő detektálási módszer és protokoll validálása a felhasználó felelőssége. Az antitest hígításának beállítását és validálását a detektáló rendszernek megfelelően kell elvégezni.

Szükséges anyagok, de a termék nem tartalmazza

Az IHC eljáráshoz szükséges egyes reagenseket a termék nem tartalmazza. A Diagnostic BioSystemsnél elérhetőek előkezelő reagensek, detektáló reagentek, kontroll reagentek és egyéb kiegészítő termékek. Ezek elérhetőek a Diagnostic BioSystems weboldalán keresztül: www.dbiosys.com

Tárolás és stabilitás

2-8°C-on tárolandó. Ez az antitest 2-8°C között tárolva a lejárat idejéig alkalmazható. Ne használjuk a terméket a csomagolásán feltüntetett lejárat időn túl. Amennyiben a reagensek az itt leírtaktól eltérő körülmények között kerültek tárolásra, alkalmazhatóságukat a felhasználónak kell validálnia. A hígított reagenseket azonnal fel kell használni. Az esetlegesen megmaradt hígított reagenseket egy nap után meg kell semmisíteni.

Az esetleges precipitátum vagy szokatlan szag megjelenése azt jelzi, hogy az antitest romlásnak indult és nem használható.

Minden vizsgálattal párhuzamosan pozitív és negatív kontroll vizsgálat végzendő. Amennyiben a laboratóriumi folyamatok változtatásával nem magyarázható váratlan festődés figyelhető meg, és az antitest hibája feltételezhető, vegye fel a kapcsolatot a Diagnostic BioSystems technikai segítségével a (925) 484-3350-os telefonszám 2-es mellékén, vagy a techsupport@dbiosys.com e-mail címen.

Mintavétel és előkészítés

A paraffinba ágyazásra 10%-os formalinban fixált szövetek alkalmasak. A minta előkészítés további részleteiről referenciákban tájékozódhat (Kiernan, 1981; Sheehan & Hrapchak, 1980).

Ajánlott a termék alkalmazhatóságát a saját laboratóriumi gyakorlat szerint előkészített és kezelt mintán validálni minden felhasználó számára.

Óvintézkedések

Ez az antitest kevesebb, mint 0.1% nátrium azidot tartalmaz. A 0.1%-nál alacsonyabb koncentrációt tartalmazó reagens nem minősül veszélyes anyagnak a U.S. 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication és EC Directive 91/155/EC értelmében. A tartósítóként alkalmazott nátrium azid (NaN₃) lenyelve mérgező hatású. A nátrium azid reakcióba léphet a vízvezetékkel ólom és réz tartalmával, és robbanásveszélyes fém-azidokat képezhet. Kiöntésekor nagy mennyiségű vizes öblítése szükséges a



vezetékekben való azid lerakódások megakadályozása céljából. (Center for Disease Control, 1976, National Institute of Occupational Safety and Health, 1976). A vizsgálati anyagokat - mind fixálás előtt és után - és minden felületet, ami ezekkel érintkezett úgy kell kezelni, mint potenciálisan fertőző anyagokat és megsemmisítésüket is ennek megfelelően kell elvégezni. Soha ne pipettázzunk reagenseket szájjal, így elkerülhetjük, hogy a bőr és nyálkahártya ezekkel érintkezzen. Amennyiben reagensek érzékeny bőrfelületekkel kerülnek érintkezésbe, bő vízzel öblítsük le a felületet.

A reagensek mikrobiális szennyeződése okozhatja a nemspecifikus háttér festődés erősödését. A javasoltól eltérő inkubációs idő vagy hőmérséklet vezethet téves eredményhez. Ezen változtatások validálása a felhasználó felelőssége. MSDS-t kérésre biztosítunk.

Szövetek festés előtti előkezelése

Helyezze a metszeteket az ajánlott antigén feltáró oldatba, használja a Diagnostic BioSystems Montage Opus™ Antigen Retrieval System előkezelő berendezést. A festés előtt hagyja a metszeteket szobahőmérsékleten húlni 20 percre.

Festés

Az alábbi táblázat a specifikusan erre az antitestre vonatkozó utasításokat tartalmaz. A további festési protokollról és egyéb követelményekről a Diagnostic BioSystems PolyVue™ Plus—Two Step Detection System vagy Montage PolyVue Plus™ Auto Detection System előhívó rendszerek termékismertetőiből tájékozódhat.

Paraméter	a Diagnostic BioSystems javaslata
Pozitív kontroll	Tonsilla, vastagbél carcinoma
Koncentrált antitest hígítása	1:25 – 1:50
Előkezelés	EDTA puffer pH 8.0
Inkubációs idő és hőmérséklet	60 perc szobahőmérsékleten
Detektáló rendszer	PolyVue™ Plus - Two Step Detection System vagy Montage PolyVue Plus™ Auto Detection System Montage 360 rendszerhez
Szövet típus	Formalinban fixált, paraffinba ágyazott

Minőségbiztosítás

Tájékozódjon a következőből: CLSI Quality Standards for Design and Implementation of Immuno-histochemistry Assays; Approved Guideline-Second edition (I/LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA (www.clsi.org). 2011.

Hibaelhárítás

Amennyiben szokatlan festődést figyelt meg, lépjen kapcsolatba a Diagnostic BioSystems technikai segítségével a (925) 484-3350-as telefonszám 2-es mellékén, a techsupport@dbiosys.com e-mail címen, vagy keresse a helyi forgalmazóját: HISZTOPATOLÓGIA Kft. a +36 72 516490-es telefonszámon, vagy az info@histopat.hu e-mail címen.

Jel lokalizációja

Sejtmag

Az eljárás korlátai

Az immunhisztokémia egy összetett technika, mely hisztokémiai és immunológiai detektáló módszereket egyesít. Az immunjelölés előtti szövet feltárás és kezelés szintén vezethet inkonzisztens eredményekhez. A fixálás és beágyazás során bekövetkező változtatások vezethetnek az eredményekben is megnyilvánuló változásokhoz (Nadji and Morales, 1983). Az endogén peroxidáz, a

vörösvértestekben jelen lévő endogén pszeudoperoxidáz és egyes szövetek endogén biotin tartalma a felhasznált detektáló rendszerektől függően nem-specifikus festődéshez vezethet. A Hepatitis B surface Antigen (HBsAg) tartalmú szövetek peroxidáz alapú rendszerekkel álpozitív eredményt mutathatnak (Omata et al, 1980). A nem megfelelő kontrasztfestés és fedés megnehezítheti az eredmények kiértékelését.

Teljesítmény jellemzők

Az egyes felhasználásokhoz tartozó optimális antitest hígítások és protokollok változóak lehetnek. Ezen változó tényezők többek között például a fixálás, hő-indukálta antigén feltárás, inkubációs idő, metszet vastagság és alkalmazott detektáló rendszer. Ezen reagensek kimagasló szenzitivitásából fakadóan az itt felsorolt inkubációs idők és hígítások nem feltétlenül alkalmazhatóak egyéb detektáló rendszer használata esetén, az így kapott eredmények eltérők lehetnek. A termékismertetőben foglalt javaslatok és protokollok kizárólag Diagnostic BioSystems termékekre alkalmazhatóak. Az optimális feltételek meghatározása a vizsgálatot végző személy felelőssége. Ezek a termékek a képzett patológus számára eszközök a morfológiai eredmények értelmezéséhez az egyéb diagnosztikai vizsgálatok eredményeivel és ide vonatkozó klinikai adatokkal összefüggésben.

Referenciák

1. Machin *et al.* J Cutan Pathol 29 (7): 415, 2002.

