

Perforine

Anticorps Monoclonal de Souris

Mob555

- Cette fiche technique est applicable à tous les formats (volumes) de produit. Le volume réel est indiqué sur le flacon ou la bouteille.

Document #: DS-0346-B
Date d'entrée en vigueur: 15/1/2018

Immunogène	Clone	Espèce	Isotype	Diluant d'anticorps primaire
Protéine recombinante correspondant à une région externe de l'extrémité C-terminale de la molécule de perforine	5B10	Souris	IgG1	K004

Concentration en Ig spécifique du lot disponible sur demande.

Catalogue	Description
Mob555	Anticorps prêt-à-l'emploi à utiliser avec les kits PolyVue™ Plus - Systèmes de détection en deux étapes - de la marque Diagnostic BioSystems

Utilisation prévue

Pour un usage de diagnostic *in vitro*. Ce produit est destiné à l'immunohistochimie qualitative avec des coupes de tissus normaux et néoplasiques fixés au formol et inclus en paraffine, à visualiser au microscope optique. L'interprétation clinique des résultats de coloration doit être accompagnée d'études histologiques avec des contrôles appropriés. Les antécédents cliniques des patients et toutes les autres données pertinentes devraient être utilisés par une ou des personnes qualifiées pour évaluer et interpréter les résultats.

Résumé et explication

Cet anticorps est spécifique à une protéine de 70 kDa, qui est une puissante protéine cytolytique formant des pores. La perforine est un marqueur spécifique des lymphocytes T cytotoxiques à activité fonctionnelle et des cellules tueuses naturelles. La perforine intervient dans la cytolyse des cellules cibles par endommagement de la membrane et apoptose.

Format

Ce produit est fourni en tant que surnageant de culture tissulaire et contient de l'azoture de sodium comme agent de conservation.

Principes de la procédure

La détection de l'antigène par immunohistochimie (IHC) est un processus en deux étapes impliquant, d'une part, la liaison d'un anticorps primaire à l'antigène d'intérêt, et, d'autre part, la détection d'un anticorps secondaire lié par un chromogène. L'anticorps primaire peut être utilisé dans l'IHC en utilisant des techniques manuelles ou en utilisant le système de coloration Automated Montage 360™ de Diagnostic BioSystems.

Dilution d'anticorps primaire

Les anticorps prêts à l'emploi de la marque Diagnostic BioSystems ont été optimisés pour être utilisés avec les Systèmes de détection recommandés et ne nécessitent pas de dilution supplémentaire. Une dilution supplémentaire peut entraîner une perte de sensibilité. L'utilisateur doit valider cette modification.

Les anticorps concentrés de la marque Diagnostic BioSystems™ doivent être dilués conformément à la procédure de coloration s'ils sont utilisés avec le système de détection recommandé par Diagnostic BioSystems. L'utilisation de méthodes de détection autres que les systèmes et protocoles recommandés nécessite une validation par l'utilisateur. Les dilutions d'anticorps doivent être correctement ajustées et vérifiées en fonction du système de détection utilisé.

Matériel requis mais non fourni

Certains réactifs et matériaux nécessaires à l'IHC ne sont pas fournis. Les réactifs de prétraitement, les systèmes de détection, les réactifs de contrôle et autres réactifs auxiliaires sont disponibles chez Diagnostic BioSystems. Veuillez consulter le site Web de Diagnostic BioSystems à l'adresse www.dbiosys.com

Stockage et manutention

Conserver à 2-8°C. Cet anticorps peut être utilisé jusqu'à la date de péremption s'il est conservé entre 2 et 8°C. Ne pas utiliser le produit après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont stockés dans des conditions autres que celles spécifiées ici, ils doivent être vérifiés par l'utilisateur. Les réactifs dilués doivent être utilisés rapidement. Les portions inutilisées de la préparation d'anticorps doivent être jetées après une journée.

La présence d'un précipité ou d'une odeur inhabituelle indique que l'anticorps se détériore et ne devrait pas être utilisé.

Des contrôles positifs et négatifs doivent être effectués simultanément avec tous les échantillons des patients. Si l'on observe une coloration inattendue qui ne peut être expliquée par des variations dans les procédures de laboratoire et qu'un problème avec l'anticorps est suspecté, contacter le support technique de Diagnostic BioSystems au (925) 484- 3350, poste 2 ou techsupport@dbiosys.com

Collecte et préparation des échantillons

Les tissus fixés dans du formol à 10% conviennent à une utilisation avant l'inclusion en paraffine. Consulter les références (Kiernan, 1981 : Sheehan & Hrapchak, 1980) pour plus de détails sur la préparation des échantillons.

Il est conseillé à l'utilisateur de valider l'utilisation des produits en interprétant les résultats de la coloration sur des tissus préparés et manipulés conformément aux pratiques internes de son laboratoire.

Précautions

Cet anticorps contient moins de 0,1% d'azoture de sodium. Les concentrations inférieures à 0,1% ne sont pas des matières dangereuses selon le US 29 CFR 1910.1200, OSHA Hazard Communication et la directive européenne 91/155 / CE. L'azoture de sodium (NaN₃) utilisé comme agent de conservation est toxique en cas d'ingestion. L'azoture de sodium peut réagir avec les tuyauteries en plomb et en cuivre pour former des azotures métalliques extrêmement explosifs. Lors de l'élimination, rincez abondamment pour éviter l'accumulation d'azoture dans la plomberie. (Center for Disease Control, 1976, Institut national de la sécurité et de la santé au travail, 1976). Les échantillons, avant et après fixation et tous les matériaux qui y sont exposés, doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre l'infection et éliminés avec les précautions appropriées. Ne pipetez jamais les réactifs par la bouche et évitez tout contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs et les échantillons. Si les réactifs ou les échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, lavez-les abondamment à l'eau. La contamination microbienne des réactifs peut entraîner une augmentation de la coloration non spécifique. Des durées d'incubation ou des températures autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider un tel changement. La fiche signalétique est disponible sur demande.

Traitement des tissus avant coloration

Placez les lames dans la solution de démasquage d'antigène recommandée avec le système de démasquage Diagnostic BioSystems Montage Opus™. Laisser les lames refroidir pendant 20 minutes avant de les colorer.



Procédure de coloration

Reportez-vous au tableau suivant pour connaître les conditions spécifiquement recommandées pour cet anticorps. Reportez-vous à la section Système de détection PolyVue™ Plus - Système de détection en deux étapes ou Système de détection automatique Montage PolyVue Plus™ de Diagnostic BioSystems pour obtenir des conseils sur les protocoles de coloration spécifiques ou autres exigences.

Paramètre	Recommandations de Diagnostic Biosystems
Contrôle positif	Spleen
Dilution de la forme concentrée	1:10-1:20
Prétraitement	Tampon citrate pH 6.0
Temps et température d'incubation	30 min à température ambiante
Système de détection	PolyVue™ Plus - Système de détection en deux étapes ou Montage PolyVue Plus™ Système de détection automatique pour système Montage 360
Type de tissu	Tissu fixé en formol et inclus en paraffine

Contrôle de qualité

Reportez-vous aux normes de qualité du CLSI pour la conception et la mise en œuvre d'analyses d'immunohistochimie; Directive approuvée - Deuxième édition (I / LA28 - A2) CLSI Wayne, PA, États-Unis (www.clsi.org). 2011.

Support technique

Contactez le support technique de Diagnostic BioSystems au (925) 484-3350, poste 2, techsupport@dbiosys.com ou votre distributeur local pour signaler des marquages inhabituels.

Localisation cellulaire

Cytoplasmique

Limites de la procédure

L'immunohistochimie est une technique complexe faisant appel à des méthodes de détection tant histologiques qu'immunologiques. Le traitement et la manipulation des tissus avant l'immunomarquage peuvent également entraîner des résultats incohérents. Des variations dans la fixation et l'inclusion ou la nature inhérente du tissu peuvent entraîner des variations dans les résultats (Nadji et Morales, 1983). L'activité de la peroxydase endogène ou l'activité de la pseudoperoxydase dans les érythrocytes et la biotine endogène peuvent provoquer une coloration non spécifique selon le système de détection utilisé. Les tissus contenant l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg) peuvent donner un faux positif avec les systèmes à base de peroxydase de raifort (Omata et al, 1980). Une contre-coloration et un montage incorrects peuvent également compromettre l'interprétation des résultats.

Caractéristiques de la performance

La dilution optimale des anticorps et les protocoles pour une application spécifique peuvent varier. Ceux-ci incluent, mais ne sont pas limités à: la fixation, le démasquage par la chaleur, les temps d'incubation, l'épaisseur de la coupe de tissu et le kit de détection utilisé. En raison de la sensibilité supérieure de ces réactifs uniques, les durées d'incubation et les titres indiqués ne s'appliquent pas aux autres systèmes de détection, car les résultats peuvent varier. Les recommandations et protocoles de la fiche de données reposent sur l'utilisation exclusive des produits de Diagnostic BioSystems. En fin de compte, il incombe à l'utilisateur de déterminer les conditions optimales. Ces produits sont des outils pouvant être utilisés par un pathologiste qualifié pour interpréter les données morphologiques en association avec d'autres tests de diagnostic et des données cliniques pertinentes.

References

- i) Hameed et al. Am J Pathol 140 (5): 1025, 1992.
- ii) Lichtenheld MG et al. Nature 335: 448, 1988.

