

Cell Control Array ALK (IHC)

Cat. No.: MB-CC ALK

Gebrauchsanweisung

Zweckbestimmung

Der Block Cell Control Array ALK (IHC) dient zur generellen Methodenkontrolle (ja/nein) der Färberegebnisse von immunhistochemischen Färbungen. Er kann darüber hinaus für bestimmte RT-PCR-Methoden verwendet werden. Der Block enthält einen für das ALK-Protein positiven Zell-Zylinder sowie einen ALK-negativen Zell-Zylinder.

Für Forschungszwecke.

Zusammenfassung und Erklärung

Das ALK-Gen ist in den meisten reifen Geweben nicht exprimiert und daher auch das ALK-Protein nicht vorhanden. Ein Rearrangement des Gens, wie z.B. beim ALCL (anaplastic large cell lymphoma) oder beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC), führt jedoch zu einer Aktivierung des Gens und zur Expression bzw. Überexpression des Proteins. Der vorliegende Block dient als Positivkontrolle beim Nachweis des ALK-Proteins in solchen und anderen Geweben.

Ein für das ALK-Protein positiver und ein negativer gestanzter Zell-Zylinder sowie zwei gestanzte Gewebezylinder mit Herzmuskelgewebe wurden in den Block eingebracht. Die Zylinder sind mit dem umgebenden Paraffin homogen verschmolzen. Eine immunhistochemische Färbung an den Zellen ermöglicht eine generelle Methodenkontrolle zum Nachweis des ALK-Proteins. Die ALK-positiven Zellen zeigen eine positive immunhistochemische Färbung bei Verwendung von ALK-Antikörpern. Die negativen Zellen zeigen keine Färbung.

Der Cell Control Array ALK (IHC) kann darüber hinaus verwendet werden, um mRNA einer EML4-ALK-Fusion (Fusion EML4 Exon 13 mit ALK Exon 20 [E13;A20]) in Real-Time PCR-Methoden nachzuweisen. Für die Extraktion der RNA sollten hierbei Schnitte mit einer gesamten Dicke von ca. 80µm eingesetzt werden (z.B. 4 x 20 µm).

Die Zellen wurden 12 bis 18 Stunden bei pH 7 in gepuffertem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Zur leichteren Erkennung beim Anschneiden und Aufziehen wurde das Paraffin des Blockes rosa eingefärbt. Die eingebrachten Gewebezylinder mit Herzmuskelgewebe dienen dem gleichen Zweck sowie ebenfalls der Orientierung im Schnitt. Die kleine Schnittfläche ermöglicht ein gleichzeitiges Aufziehen von zu untersuchendem Gewebe und dem Cell Control Array ALK. Diese "on-slide-control-array-Färbung" dokumentiert auch noch nach Jahren die Färbeleistung auf dem archivierten Schnitt.

Geliefertes Produkt

REF / Cat. No. MB-CC ALK

1 Block **Cell Control Array ALK (IHC)**

Lagerung und Handhabung

Der Block sollte trocken und bei Raumtemperatur im mitgelieferten Döschen gelagert werden.

Er ist ohne weitere Hilfsmittel schneidbar, sollte aber vorsichtig in das Mikrotom eingespannt werden, da er sonst reißen kann. Es ist darauf zu achten, dass der Block nicht tiefer als -15°C gekühlt wird, da er sonst ebenfalls reißen kann.

Die Schnitte (3-5 µm) sollten auf adhäsive Objektträger aufgezogen und bei 37°C über Nacht oder 2 Stunden bei 65°C getrocknet werden. Bei fachtechnisch regelgerechtem Anschnitt können erfahrungsgemäß mindestens 130 bis 170 Schnitte angefertigt werden; bis zu 400 Schnitte sind möglich. Dies hängt von der Handhabung des Blockes, insbesondere von der Häufigkeit des Anschnitts und der Schnittdicke ab. Die Schnitte sollten erst kurz vor der Anwendung hergestellt werden, um unnötiges Altern zu vermeiden. Geschnittene Kontrollen sollten nicht älter als 6 Wochen sein.

Aus produktionstechnischen Gründen befindet sich eine dünne Paraffinschicht oberhalb der Zelllinienstanzen. Der Block ist gebrauchsfertig sobald die Paraffinschicht weggeschnitten ist und alle Zellstanzen frei zugänglich sind.

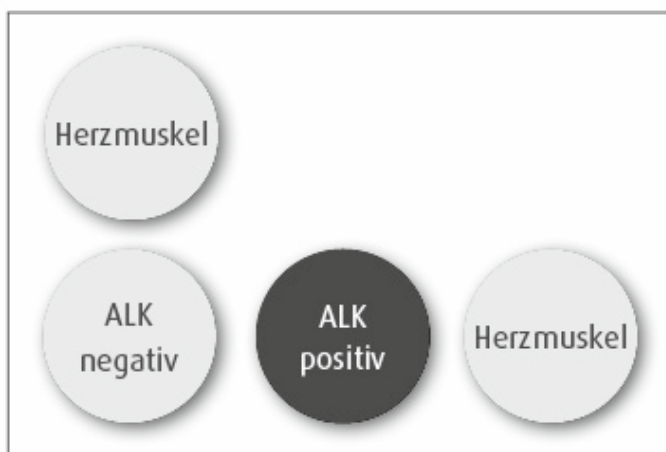
Die Tiefe der Zell-Zylinder beträgt mindestens 2 mm; sie kann von Array zu Array leicht differieren. Zusätzlich zu den Zellen ist Herzmuskelgewebe in den Array eingebracht, um beim Aufziehen und Mikroskopieren eine rasche und einfache Lokalisierung der aufgezogenen Schnitte auf den Objektträgern zu gewährleisten.

Vorsichtsmaßnahmen

Anwendung durch geschultes Fachpersonal. Eine Gesundheitsgefährdung durch den Array-Block ist nicht zu erwarten. Er sollte jedoch wie jedes potenziell infektiöse, formalinfixierte und paraffineingebettete Humanmaterial behandelt werden. Geeignete Schutzkleidung ist zu tragen. Ein Sicherheitsdatenblatt für das Fachpersonal ist auf Anfrage erhältlich.

Auswertung

Die Orientierung der verschiedenen gestanzten Zylinder im Cell Control Array ALK (IHC) ist in der Abbildung verdeutlicht. Da nicht alle Zellen das ALK-Protein in jeweils gleicher Menge produzieren, können sich in der immunhistochemischen Reaktion Unterschiede in der Intensität der Färbung ergeben bzw. je nach Sensitivität der Reaktion auch ein geringer Prozentsatz von Zellen keine Färbung zeigen. Generell kann der Block aber als Positivkontrolle sowohl für die Verwendung bei immunhistochemischen Färbungen an Lymphomgewebe als auch an Lungengewebe dienen.



Fehlersuche

Sollte eine ungewöhnliche Färbung auftreten, so lesen Sie bitte die Packungsbeilage auf eventuelle Hinweise oder kontaktieren Sie den Hersteller.

Grenzen der Methode

Zahlreiche Faktoren können die Ergebnisse der immunhistochemischen Reaktion des MB-CC ALK wesentlich beeinflussen. Dazu zählen die verwendeten Reagenzien, wie z.B. der Antikörperklon, das Detektionssystem und der Vorbehandlungspuffer (Citrat- oder TRIS/EDTA- Puffer). Besonders die Sensitivität des Detektionssystems und des Chromogens nehmen Einfluss auf die Färbintensität.

Aus diesem Grund ist es sinnvoll, bei der Austestung und Verdünnungsbestimmung eines Antikörpers sowohl einen MB-CC ALK-Schnitt, als auch unterschiedlich stark positive Tumorgewebe zu verwenden.

Für das Färberegebnis spielen weiterhin die Schnittdicke, die Temperatur beim Trocknen der Schnitte, die Dauer der Lagerung der Schnitte und das verwendete Hämatoxylin eine entscheidende Rolle.

Zytomed Systems garantiert, dass das Produkt bei korrekter Lagerung und Handhabung bis zum Ablauf des Haltbarkeitsdatums allen beschriebenen Anforderungen entspricht. Darüber hinaus gehende Garantien können nicht gegeben werden.

Leistungsdaten

Zytomed Systems hat Studien hinsichtlich der Leistung des Produktes durchgeführt. Das Produkt wurde als geeignet für den vorgesehenen Verwendungszweck beurteilt.

Literatur

Shaw A et al. Nature 13:772-787 (2013)

Dabbs D Immunohistochemistry, Elsevier 2006 ISBN 0-443-06652-3

Omata M et al. Am J Clin Pathol 73:626-632, 1980

Nadji M, Morales AR. Ann N Y Acad Sci 420:134-138, 1983



www.zytomed-systems.de

Zytomed Systems GmbH • Anhaltinerstraße 16 •
14163 Berlin, Germany • Tel: (+49) 30-804 984 990



GSH02: Entzündlich



GSH05: Ätzend



GSH07: Achtung



RUO

GSH08: Systemische
Gesundheitsgefährdungen

Nur für
Forschungszwecke

Erklärungen zu den Symbolen auf dem Produktetikett

Die Symbole werden gemäß der ISO 15223-1 verwendet. Weitere Symbole auf dem Produktetikett können sein