

Cell Control Array ROS1 (IHC)

Cat. No.: MB-CC ROS1

Gebrauchsanweisung

Zweckbestimmung

Der Block Cell Control Array ROS1 (IHC) dient zur generellen Methodenkontrolle (ja/nein) der Färbeergebnisse von immunhistochemischen Färbungen an formalinfixiertem, paraffineingebetteten Gewebe. Er kann darüber hinaus für bestimmte RT-PCR-Methoden verwendet werden. Der Block enthält zwei für das ROS1-Protein positive Zell-Zylinder sowie einen ROS1-negativen Zell-Zylinder. Für Forschungszwecke.

Zusammenfassung und Erklärung

Das ROS1-Gen ist in den meisten differenzierten Geweben nicht exprimiert und daher das ROS1-Protein zumeist nicht nachweisbar. Chromosomale Rearrangements des Proto-Onkogens können jedoch zu einer Aktivierung des Gens und zur Expression bzw. Überexpression des Proteins führen. Dies kann nachweislich zur Entstehung verschiedener Tumoren, wie z.B. dem nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC), beitragen. Der vorliegende Block dient als Positiv- und Negativkontrolle beim Nachweis des ROS1-Proteins in solchen und anderen Geweben.

Zwei für das ROS1-Protein positive und ein negativer gestanzter Zellzylinder sowie ein Gewebezylinder mit Herzmuskelgewebe wurden in den Block eingebracht. Die zwei positiven ROS1-Zelllinien unterscheiden sich in der Stärke der ROS1-Expression. Diese liegt im schwachen bis mittleren Bereich.

Die Stanz-Zylinder sind mit dem umgebenden Paraffin homogen verschmolzen. Eine immunhistochemische Färbung an den Zellen ermöglicht eine generelle Methodenkontrolle zum Nachweis des ROS1-Proteins. Die ROS1-positiven Zellen zeigen eine positive immunhistochemische Färbung bei Verwendung von ROS1-Antikörpern. Die negativen Zellen zeigt keine Färbung.

Der Cell Control Array ROS1 (IHC) kann darüber hinaus verwendet werden, um mRNA einer CD74-ROS1-Fusion in Real-Time PCR-Methoden nachzuweisen. Abhängig vom Gehalt an Tumormaterial sollten für die Extraktion der RNA Schnitte mit einer gesamten Dicke von bis zu 80 µm 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. Der eingebrachte Gewebezylinder mit Herzmuskelgewebe dient 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 ROS1. Diese "on-slide-control-array-Färbung" dokumentiert auch noch nach Jahren die Färbeleistung auf dem archivierten Schnitt.

Geliefertes Produkt

REF / Cat. No. MB-CC ROS1

1 Block **Cell Control Array ROS1 (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.

Aus produktionstechnischen Gründen befindet sich eine dünne Paraffinschicht oberhalb der Zell-Zylinder. Der Block ist gebrauchsfertig sobald die Paraffinschicht weggeschnitten ist und alle Zell-Zylinder 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 worden, um beim Aufziehen und Mikroskopieren eine rasche und einfache Lokalisierung der aufgezogenen Schnitte auf den Objektträgern zu gewährleisten.

Vorsichtsmaßnahmen

Anwendung durch geschultes Fachpersonal.

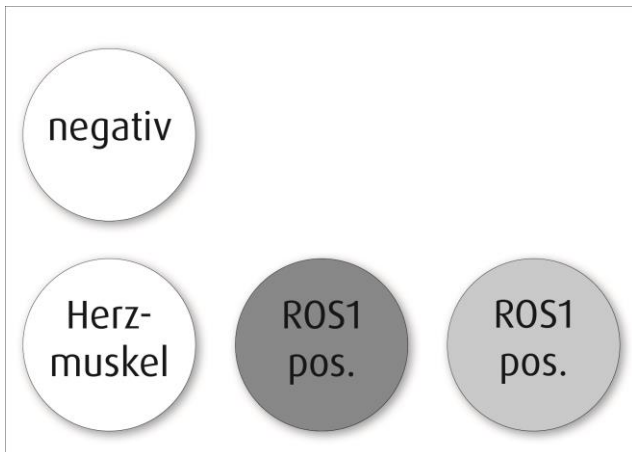
Eine Gesundheitsgefährdung durch den Array-Block ist nicht zu erwarten. Er sollte jedoch wie jedes potenziell infektiöse, formalinfixierte und paraffineingebettete Humanmaterial behandelt werden. Geeignete Schutzkleidung ist zu tragen. Ein Sicherheitsdatenblatt für das Fachpersonal ist auf Anfrage erhältlich.

Auswertung

Die Orientierung der verschiedenen Zylinder im Cell Control Array ROS1 (IHC) ist in der Abbildung verdeutlicht. Die beiden ROS1-positiven Zelllinien unterscheiden sich in der Stärke der ROS1-Expression. Diese liegt im schwachen bis mittleren Bereich.

Da nicht alle Zellen das ROS1-Protein in gleicher Menge produzieren, können sich in der immunhistochemischen Reaktion Unterschiede in der Intensität der Färbung ergeben bzw. je nach Sensitivität der Reaktion oder des Antikörpers auch ein größerer Prozentsatz von Zellen keine Färbung zeigen. Generell kann der Block aber als Positivkontrolle für die Verwendung bei immunhistochemischen Färbungen an Lungengewebe und auch an anderen Geweben dienen. Die Färbung ist zytoplasmatisch und meist granulär.

Es ist zu beachten, dass in nicht-neoplastischen hyperplastischen Typ II-Pneumozyten und in Alveolarmakrophagen teilweise eine schwache ROS1-Expression auftritt. In Knochenmetastasen zeigen osteoklastenartige Riesenzellen oft eine starke granuläre Zytoplasmafärbung.



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 ROS1 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 Färbeintensität.

Aus diesem Grund ist es sinnvoll, bei der Austestung und Verdünnungsbestimmung eines Antikörpers sowohl einen MB-CC ROS1-Schnitt, als auch unterschiedlich stark positive Tumorgewebe zu verwenden.

Für das Färbeergebnis 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)

Bubendorf L et al. Virchows Arch 469:489-503 (2016)

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)

04. Dezember 2019

Ref.: A1219

Doc: DB_MB-CC ROS1

Erläuterung der auf dem Produktetikett verwendeten Symbole:

REF	Bestellnummer Catalog Number Reference du catalogue		Verwendbar bis Use By Utiliser jusque		Gebrauchsanweisung beachten Consult Instructions for use Consulter les instructions d'utilisation
LOT	Chargenbezeichnung Batch Code Code du lot		Lagerungstemperatur Temperature Limitation Limites de température	RUO	Nur für Forschungszwecke For Research Use Only Pour la recherche uniquement
IVD	In vitro Diagnostikum In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro		Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Hersteller / Manufacturer / Fabricant Zytomed Systems GmbH Anhaltinerstraße 16 14163 Berlin, Germany Tel: (+49) 30-804 984 990 www.zytomed-systems.de
	Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Achtung Warning Attention		Gefahr Danger Danger