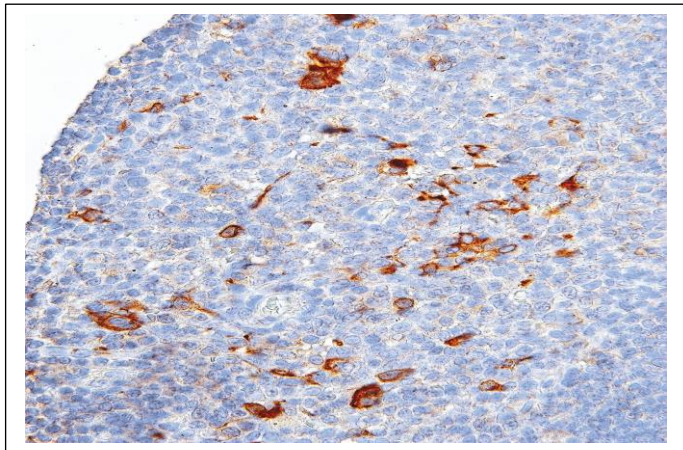


CTLA-4 Antibody



رنگ آمیزی لوزه انسان با آنتی بادی CTLA-4

مشخصات فرآورده	
نام کلون:	SBC-1056
ایزوتیپ:	IgG1
میزبان:	خرگوش
واکنشگری:	CTLA-4 انسان
شکل:	Concentrate/Ready to use
رقت پیشنهادی:	۱:۱۰۰ تا ۱:۲۰۰
فرمولاسیون:	بافر تریس، PH:7.3-7.7 حاوی ۱٪ BSA و کمتر از ۰.۱٪ سدیم آزاید
شرایط نگهداری:	۲-۸ درجه سانتی گراد (فریز نشود)
کاربرد:	ایمونوهیستوشیمی
کنترل مثبت	Tonsil
محل اثر در سلول	غشائی - سیتوپلاسم

مقدمه:

این آنتی بادی بمنظور تعیین حضور آنتی ژن CTLA-4 در برش های بافتی formalin-fixed, paraffin-embedded با استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی کاربرد دارد.

توضیح:

Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4 (CTLA-4) یک گیرنده بر روی سلول های T helper است که به صورت بازرس در سیستم ایمنی و کاهش دهنده پاسخ های ایمنی عمل می کند. جهش در CTLA-4 با دیابت ملیتوس mellitus وابسته به انسولین، تیروئیدیت هاشیموتو Hashimoto's thyroiditis، بیماری گریوز Graves' disease، لوپوس اریتماتوز سیستمیک (SLE)، بیماری سلپاک celiac، سیروز صفاوی اولیه، اوربیتوپاتی orbitopathy مرتبط با تیروئید، مولتیپل اسکلروزیس MS و سایر بیماری های خودایمنی مرتبط است. کمبود CTLA-4 باعث اختلال سیستم ایمنی یا بیماری CHAI (CTLA-4 haploinsufficiency with autoimmune infiltration) می شود.

دستورالعمل استفاده:

نکات مهم در رنگ آمیزی به روش دستی:

۱. از روش Heat-Induced Epitope Retrieval (HIRE) در PH=9 بمدت ۱۰-۳۰ دقیقه استفاده شود. مدت زمان بازیافت آنتی ژن بسته به مدت زمان فیکس شدن بافت متفاوت است و لازم است هر آزمایشگاه این مدت زمان را بهینه نماید.
۲. در محلول بلاکینگ پراکسیداز بمدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در دمای محیط بلاک شود (اگر از سیستم آلکالین فسفاتاز استفاده می شود این مرحله نیاز نیست).
۳. از آنتی بادی اولیه غلیظ در رقت ۱:۱۰۰ تا ۱:۲۰۰ بمدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه در دمای محیط استفاده کنید (در صورتی که آنتی بادی از نوع آماده مصرف ready to use باشد از رقیق نمودن آن اجتناب کنید و آن را به همان صورت دریافت شده مصرف نمایید). رقت و مدت زمان اتکوباسیون برش بافت با آنتی بادیها به افینیتی آنتی بادی، نوع آنتی بادی ثانویه و سیستم رنگ آمیزی بستگی دارد. لذا این متغیرها می بایست در هر آزمایشگاه بهینه شود.
۴. آنتی بادی ثانویه بمدت ۳۰-۴۵ دقیقه در دمای محیط اتکوبه شود (بسته به نوع کیت که تک مرحله یا ۲ مرحله باشد زمان متغیر است).
۵. از سوپسترای DAB یا Fast Red بمدت ۵-۱۵ دقیقه در دمای محیط استفاده شود.
۶. اسلاید را با هماتوکسین رنگ آمیزی و پس از شستشو با آب مقطر، با محلول blueing بمدت ۳۰ ثانیه مجاور شود.
۷. پس از خشک شدن اسلاید، لامل روی آن قرار گرفته شود.

روش رنگ آمیزی پیشنهادی در دستگاه های اتوماتیک:

نکات مهم در روش رنگ آمیزی با سیستم خودکار (اتوماتیک) با دستگاه Ventana BenchMark ULTRA

رقت پیشنهادی آنتی بادی ۱:۳۰ تا ۱:۶۰ است.

۱. از کیت Ultra View DAB IHC استفاده نمایید.

۲. پروتکل مرحله اول ۳۲ تا ۶۴ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد.

نکات مهم در روش رنگ آمیزی با دستگاه Leica Biosystems' BOND-MAX Autostainer

۱. زمان Marker Incubation بمدت ۳۰ دقیقه انجام گیرد.
۲. روش Heat-induced epitope retrieval (HIER) با استفاده از محلول Bond ER بمدت ۲ تا ۳۰ دقیقه انجام گیرد.

برای سایر سیستم‌های رنگ‌آمیزی خودکار IHC، به دفترچه راهنمای مربوطه مراجعه کنید.

عیب یابی :

۱. کنده شدن بخش‌هایی از بافت از روی لام ممکن است به دلایل زیر رخ داده باشد:

- اسلایدها بار مثبت ندارند.
- زمان فیکس کردن در فرآیند تثبیت کافی نیست.
- استفاده از برش بافت ضخیم.
- خشک شدن بافت قبل از مرحله رنگ‌آمیزی کافی نیست.

۲. رنگ پذیری کم بافت کنترل مثبت یا عدم رنگ پذیری ممکن است به دلایل زیر باشد:

- عدم کارکرد آنتی بادی اولیه یا یکی از معرف‌های ثانویه
- تثبیت یا پارافین زدایی نادرست برش بافت
- خطا در فرآیند رنگ‌آمیزی IHC
- استفاده از کیت رنگ‌آمیزی نامناسب و ضعیف
- استفاده از رقیق‌کننده آنتی بادی نامناسب
- استفاده از بافر Retrieval با PH نامناسب
- استفاده از آنتی بادی اولیه با زمان کمتر از زمان پیشنهاد شده

۳. رنگ آمیزی بیش از حد و وجود Back ground

- غلظت آنتی بادی اولیه و یا مدت زمان انکوباسیون آن زیاد است.
- درجه حرارت آزمایشگاه در زمان انکوباسیون بافت با آنتی بادی اولیه و یا کیت Detection بالا است. (درجه حرارت توصیه شده ۲۶-۲۰ است)

۴. وجود سیگنال مزاحم

- شستشوی مراحل ناکافی است.
- بافت طی مراحل رنگ‌آمیزی خشک شده است.
- بافت حاوی تا خوردگی و یا قسمت‌های نکروتیک است.
- مدت زمان انکوباسیون با آنتی بادی اولیه یا کیت Detection بیش از حد مجاز است.
- آنتی ژن مورد نظر از سلول خارج شده است (این پدیده عمدتاً در بافت‌هایی مانند تیروئید برای تیروگلوبولین، بافت تخمدان برای CA125 و یا آنتی ژن‌های محلول رخ می‌دهد).
- محل‌های اتصال غیر اختصاصی در بافت به خوبی Block نشده است.

۵. اگر بافت کنترل مثبت، رنگ آمیزی ضعیف‌تر از حد انتظار نشان می‌دهد:

مشکل ممکن است به دلیل شرایط نامساعد در روش کار IHC رخ داده باشد. به عنوان مثال تخریب آنتی بادی اولیه به دلیل شرایط نگهداری نامناسب یا استفاده از معرف‌های ثانویه که از کار افتاده‌اند. برای کمک در مورد سایر انواع سؤالات، لطفاً با کارشناس شرکت تماس بگیرید.

هشدارها و اقدامات احتیاطی:

۱. اطمینان حاصل کنید که از روش‌های مناسب کار با معرف پیروی می‌کنید. همیشه از روپوش آزمایشگاهی، دستکش یکبار مصرف و سایر تجهیزات حفاظت فردی مناسب استفاده کنید.
۲. از خوردن آنتی بادی پرهیز کنید و از تماس آن با چشم و سایر غشاهای مخاطی خودداری کنید. در صورت هرگونه تماس با آنتی بادی ناحیه را با مقدار زیادی آب بشویید.
۳. برای اطمینان از پایداری آنتی بادی و دقت نتایج، اطمینان حاصل کنید که آنتی بادی با میکروپها آلوده نشود برای اینکار لازم است از وسایل استریل استفاده نمایید.
۴. در حین کار با آنتی بادی آن را برای زمان طولانی در مجاورت دمای محیط قرار ندهید و بلافاصله پس از استفاده آن را به یخچال منتقل نمایید.

شما می‌توانید از سایر محصولات شرکت زیست فناوریان سینا به همراه محصول فوق استفاده نمایید. (جدول زیر را مطالعه کنید)

محصولات مرتبط

N	Item	Cat.No.	N	Item	Cat.No.
1	Poly-HRP detection system	SB-049951	4	PBS Buffer	SB-049881
2	Antibody Diluent for IHC	SB-049961	5	TBS Buffer	SB-049891
3	Tris-EDTA Buffer (PH9)-Retrieval	SB-049971	6	Sina Pen	SB-079991

