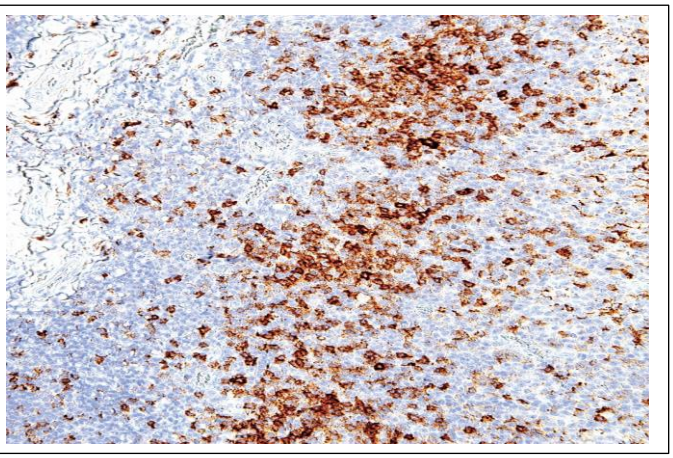
PD-1 Antibody

مشخصات فرآورده	
نام کلون:	SBC-991
ایزوتیپ:	IgG1
میزبان:	موش
واکنشگری:	PD-1 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-Lymph Node
محل اثر در سلول	سیتوپلاسم- غشائی



رنگ آمیزی لوزه انسان با آنتی بادی PD-1

مقدمه:

این آنتی بادی بمنظور تعیین حضور آنتی ژن PD-1 در برش های بافتی formalin-¬fixed, paraffin-embedded با استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی کاربرد دارد.

توضیح :

Programmed Death 1 (PD-1) عضوی از خانواده CD28/CTLA-4 است که به عنوان یک گیرنده مشترک روی سطح سلول های T فعال شده، سلول های B و ماکروفاژها بیان می شود. مطالعات جدید نشان داده اند که مسیر سیگنال دهی PD-1/PD-L1 ممکن است با ایمنی ضد تومور مرتبط باشد، زیرا مشخص شده که PD-L1 باعث القاء مرگ برنامه ریزی شده سلول های T فعال یا مهار فعالیت سلول های T سیتوتوکسیک cytotoxic می شود. در مقایسه با CD10 و Bcl-6، **PD-1** توسط سلول های B کمتری بیان می شود و بنابراین به عنوان یک نشانگر تشخیصی اختصاصی تر و مفیدتر برای لنفوم سلول T آنژیوایمونوبلاستیک angioimmunoblastic T-cell در نظر گرفته شده است. روش های درمانی که گیرنده PD-1 را هدف قرار داده‌اند، پاسخ‌های بالینی قابل‌توجهی را در بیماران مبتلا به انواع مختلف سرطان، از جمله سرطان ریه سلول‌های غیرکوچک non-small-cell lung cancer ، ملانوم و سرطان سلول کلیوی نشان داده‌اند.

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 رقت۱:۱۰۰ 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 انکوباسیون 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 انکوبه شود (بسته به نوع کیت که تک مرحله یا ۲ مرحله باشد زمان متغیر است).

۵.از سوبسترای 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 نمائید.

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

۳.آنتی بادی اولیه به مدت ۳۲ دقیقه در دمای ۳۶ درجه سانتیگراد استفاده شود.

-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 بخش هایی 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 رنگ آمیزی 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 معرف های ثانویه
- تثبیت یا پارافین زدایی نادرست برش بافت
- خطا در فرآیند رنگ آمیزی IHC
- استفاده از کیت رنگ آمیزی نامناسب و ضعیف
- استفاده از رقیق کننده آنتی بادی نامناسب
- استفاده از بافر Retrival 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 °c است)

۴. وجود سیگنال مزاحم

- شستشوی مراحل ناکافی است.
- بافت طی مراحل رنگ آمیزی خشک شده است.
- بافت حاوی تا خوردگی و یا قسمت های 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 عمدتا در بافت هایی مانند تیروئید برای تیروگلوبولین، بافت تخمدان برای CA125 و یا آنتی ژن های محلول رخ می دهد).
- محل های اتصال غیر اختصاصی در بافت به خوبی Block نشده است.

۵. اگر بافت کنترل مثبت، رنگ آمیزی ضعیف تر 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 معرف های ثانویه که از کار افتاده اند. برای کمک در مورد سایر انواع سؤالات، لطفاً با کارشناس شرکت تماس بگیرید.

هشدارها و اقدامات احتیاطی:

۱ .اطمینان حاصل کنید که از روش های مناسب کار با معرف پیروی می کنید. 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 هر گونه 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 میکروب ها آلوده نشود برای اینکار لازم است از وسایل استریل استفاده نمائید.

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 نمائید.

شما می توانید از سایر محصولات شرکت زیست فناوران سینا به همراه محصول فوق استفاده نمائید . (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