

Tissue-Tek Genie® DUO

anti-p40 [BC28] / Napsin A [EP205] Antibody Cocktail

Instructions d'utilisation

Utilisation prévue

Utilisation dans le cadre d'un diagnostic *in vitro*.

Le Tissue-Tek Genie® DUO anti-p40 [BC28] / Napsin A [EP205] Antibody Cocktail est un cocktail d'anticorps conçu pour la détection qualitative des protéines p40 et napsine A dans des coupes d'échantillons fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE) par coloration immunohistochimique (IHC) sur le Tissue-Tek Genie® Advanced Staining System. L'interprétation clinique doit être faite en conjonction avec un examen histologique, des informations cliniques pertinentes, d'autres tests de diagnostic et des contrôles appropriés par un pathologiste qualifié.

Limitations

Ce produit a été optimisé pour une utilisation avec le protocole par défaut pour cet anticorps sur le Tissue-Tek Genie Advanced Staining System, à l'aide de réactifs Tissue-Tek Genie® et de coupes d'échantillons FFPE. La qualité de la coloration peut diminuer en cas d'utilisation avec d'autres systèmes et/ou réactifs.

Résumé et principe

L'isoforme $\Delta Np63$, également connue sous le nom de p40, est l'isoforme prédominante de p63 qui est tronquée, ou dont le domaine N-terminal est manquant. La p40 est une protéine nucléaire et un facteur de transcription. Elle est confinée aux cellules basales de l'épithélium squameux et de l'urothélium, ainsi qu'aux cellules basales/myoépithéliales du sein, de la glande sudoripare, de la glande salivaire et de la prostate. Des études récentes ont montré que la p40 est très spécifique aux cellules squameuses et basales et qu'elle supérieure à la p63 pour le diagnostic du carcinome à cellules squameuses pulmonaires.

La napsine A est une protéase qui est principalement exprimée dans les poumons et les reins. Elle est exprimée dans des cellules alvéolaires de type II. La napsine A est détectée dans 60 à 90 % des cas d'adénocarcinomes pulmonaires non mucineux et moins fréquemment dans les cas d'adénocarcinomes pulmonaires mucineux et de carcinomes à grandes cellules (20 à 30 %). Dans la plupart des études, la napsine A n'est pas détectée, ou seulement colorée focalement, dans le carcinome à cellules squameuses du poumon. Des études ont démontré que la napsine A présente approximativement la même sensibilité que le TTF1, mais sa spécificité est plus élevée.

Le Tissue-Tek Genie® DUO anti-p40 [BC28] / Napsin A [EP205] Antibody Cocktail utilise le chromogène DAB brun pour la p40 nucléaire et le chromogène rouge AP pour la napsine A cytoplasmique. Le cocktail d'anticorps est une aide utile pour différencier le carcinome à cellules squameuses du poumon (le plus souvent p40 positif et napsine A négatif) de l'adénocarcinome du poumon (le plus souvent p40 négatif et napsine A positif) lorsqu'il est utilisé avec un ensemble d'autres anticorps.

Le Tissue-Tek Genie® DUO anti-p40 [BC28] / Napsin A [EP205] Antibody Cocktail contient un anticorps monoclonal de souris anti-p40 [BC28] et un anticorps monoclonal de lapin anti-napsine A [EP205] dans un cocktail d'anticorps primaires qui reconnaît les protéines humaines p40 et napsine A respectivement et est fourni dans une solution saline tamponnée contenant 1 % d'albumine sérique bovine et 0,09 % d'azoture de sodium. Les coupes d'échantillons FFPE sont placées sur des lames chargées positivement et la paraffine est retirée à l'aide de la Tissue-Tek Genie® Dewax Solution (REF 8865-G001), après quoi le démasquage par la chaleur des épitopes est effectué

à l'aide de la Tissue-Tek Genie® High pH Antigen Retrieval Solution (REF 8744-G001).

La mise en évidence par IHC des protéines p40 et napsine A dans des coupes d'échantillons FFPE est obtenue en utilisant le Tissue-Tek Genie® DUO anti-p40 [BC28] / Napsin A [EP205] Antibody Cocktail et le Tissue-Tek Genie® DUO Mouse-DAB/Rabbit-AP Red Dual Detection Kit (REF 8837-K250) Cette procédure implique l'application séquentielle d'anticorps et de composants du kit comme suit :

- Tissue-Tek Genie® DUO Mouse-DAB/Rabbit-AP Red Dual Detection Kit, Protein Block
- Tissue-Tek Genie® DUO anti-p40 [BC28] / Napsin A [EP205] Antibody Cocktail
- Tissue-Tek Genie® DUO Mouse-DAB/Rabbit-AP Red Dual Detection Kit, Link Mouse
- Tissue-Tek Genie® DUO Mouse-DAB/Rabbit-AP Red Dual Detection Kit, Link Rabbit
- Tissue-Tek Genie® DUO Mouse-DAB/Rabbit-AP Red Dual Detection Kit, Poly HRP + AP Conjugate
- Tissue-Tek Genie® DUO Mouse-DAB/Rabbit-AP Red Dual Detection Kit, DAB
- Tissue-Tek Genie® DUO Mouse-DAB/Rabbit-AP Red Dual Detection Kit, AP Red

La Tissue-Tek Genie® Hematoxylin (REF 8830-M250) est ensuite utilisée pour visualiser les noyaux des cellules. La lame colorée par IHC est recouverte et la coupe d'échantillon FFPE est examinée à l'aide d'un microscope optique.

Résultats attendus

La spécificité et l'utilisation prévue de cet anticorps ont été validées par le biais d'une coloration IHC sur le Tissue-Tek Genie Advanced Staining System en utilisant des coupes d'échantillons FFPE de cellules normales et tumorales.

Tissu normal : une coloration nucléaire brune de la p40 est observée dans les kératinocytes de l'épithélium squameux stratifié de la peau, du col de l'utérus, de l'œsophage et des amygdales. Une coloration nucléaire brune de la p40 est observée dans les cellules basales de l'épithélium respiratoire des bronches et du larynx et dans les cellules basales/myoépithéliales du sein, des glandes sudoripares, des glandes salivaires et de la prostate. La coloration nucléaire brune de la p40 est également observée dans les cellules urothéliales. Dans le placenta, une coloration nucléaire brune de la p40 est observée dans les cellules

cytotrophoblastiques dispersées. La coloration de la p40 n'est généralement pas observée dans les autres cellules.

Une coloration cytoplasmique granulaire rouge de la napsine A est observée dans les pneumocytes de type II et les macrophages alvéolaires du poumon. Une coloration cytoplasmique granulaire rouge de la napsine A est observée dans les cellules épithéliales des tubules rénaux proximaux. Aucune coloration de la napsine A n'est observée dans les cellules épithéliales prismatiques normales et les macrophages du lamina propria du côlon.

Tissu tumoral : une coloration nucléaire brune de la p40 est observée dans les cellules néoplasiques du carcinome à cellules squameuses du poumon. Aucune coloration de la p40 n'est observée dans les cellules néoplasiques de l'adénocarcinome du poumon. Une coloration nucléaire brune de la p40 est également observée dans les carcinomes urothéliaux et dans les carcinomes à cellules squameuses de la peau, de l'œsophage et du col de l'utérus.

Une coloration cytoplasmique granulaire rouge de la napsine A est observée dans les cellules néoplasiques de l'adénocarcinome du poumon et de l'hypernéphrome.

La sensibilité et l'identification des protéines p40 et napsine A par ce cocktail d'anticorps peuvent être affectées par une mauvaise manipulation des échantillons. Cela peut altérer l'antigénicité, affaiblir la détection et générer de faux résultats négatifs.

Modèle de coloration cellulaire : coloration nucléaire brune pour la p40 et coloration cytoplasmique granulaire rouge pour la napsine A

Échantillon témoin positif : poumons, adénocarcinomes du poumon et carcinomes à cellules squameuses

Mises en garde et avertissements

Réservé à un usage professionnel. Prendre les précautions nécessaires lors de la manipulation. Éviter tout contact des réactifs avec les yeux, la peau et les muqueuses. Porter des gants et des vêtements de protection, ainsi qu'une protection des yeux/du visage.

Les capsules remplies d'anticorps pré-dilués prêts à l'emploi sont à usage unique. Ne pas essayer de les remplir ou d'ajouter du réactif. Jeter la capsule après utilisation.

Les cartouches remplies d'anticorps pré-dilués prêts à l'emploi sont destinées à des utilisations multiples. Ne



pas essayer de les remplir ou d'ajouter du réactif. Jeter la cartouche lorsqu'elle est vide.

Il est recommandé d'inclure des témoins appropriés sur chaque lame d'échantillon pour faciliter l'identification de tout écart susceptible de se produire pendant le processus de coloration.

Toutes les pratiques de mise au rebut doivent être conformes à l'ensemble des lois et des réglementations fédérales, régionales et locales. Voir la FDS pour plus d'informations.

Conditions de stockage

Conservez ce produit à une température comprise entre 2 et 8 °C.

Instructions d'utilisation

Tissue-Tek Genie® DUO anti-p40 [BC28] / Napsin A [EP205] Antibody Cocktail, capsules (REF 8487-C010) :

1. Attachez la plaque d'identification indiquant une zone de distribution de réactifs (plaque RDA) Tissue-Tek Genie® sur la capsule dans la RDA.
2. Poussez la capsule dans la RDA avec le côté film vers le bas et clipsez la plaque RDA attachée pour la mettre en place sur la RDA.
3. Placez la RDA sur la station souhaitée du Tissue-Tek Genie Advanced Staining System.
4. Placez la lame avec la coupe d'échantillon sur la même station, côté coupe d'échantillon vers le bas.
5. Attribuez le protocole 8487 à la même station.
6. Lancez l'exécution du protocole 8487.
7. La plaque RDA 8487 sera scannée et enregistrée automatiquement lorsque le processus de coloration sera lancé.
8. Au cours de l'étape d'application de l'anticorps primaire, l'anticorps sera libéré de la capsule dans la RDA et sur la coupe d'échantillon de la lame.
9. Le protocole de coloration continue jusqu'à la fin.

Tissue-Tek Genie® DUO anti-p40 [BC28] / Napsin A [EP205] Antibody Cocktail, cartouche (REF 8487-M100) :

1. Avant de placer la cartouche sur le carrousel du Tissue-Tek Genie Advanced Staining System, amorcez la cartouche en orientant la buse vers le bas et en pinçant doucement la tubulure de la buse jusqu'à ce qu'elle soit remplie de réactif.
2. Placez la cartouche sur le carrousel.
3. Clipsez la plaque RDA 8487 pour la mettre en place sur la RDA.

4. Placez la RDA sur la station souhaitée du Tissue-Tek Genie Advanced Staining System.
5. Placez la lame avec la coupe d'échantillon sur la même station, côté coupe d'échantillon vers le bas.
6. Attribuez le protocole 8487 à la même station.
7. Lancez l'exécution du protocole 8487.
8. La plaque RDA 8487 et la cartouche seront scannées et enregistrées automatiquement lorsque le processus de coloration sera lancé.
9. Au cours de l'étape d'application de l'anticorps primaire, l'anticorps sera distribué de la cartouche dans la RDA et sur la coupe d'échantillon de la lame.
10. Le protocole de coloration continue jusqu'à la fin.

Matériel requis, mais non fourni

Les réactifs suivants peuvent être nécessaires pour la coloration, mais ne sont pas fournis :

- Tissue-Tek Genie® Dewax Solution (REF 8865-G001)
- Tissue-Tek Genie® Wash Solution (REF 8874-G004)
- Tissue-Tek Genie® High pH Antigen Retrieval Solution (REF 8744-G001)
- Tissue-Tek Genie® DUO Non-immune Mouse and Rabbit Ig Antibody Cocktail, Negative Control (REF 8482-C010, 8482-M250)
- Tissue-Tek Genie® DUO Mouse-DAB/Rabbit-AP Red Dual Detection Kit (REF 8837-K250)
- Tissue-Tek Genie® Hematoxylin (REF 8830-M250)

Vous trouverez de plus amples informations sur le site web de Sakura Finetek USA à l'adresse www.sakuraus.com/Genie.

Informations relatives à la commande

Code produit, nom du produit et quantité
REF 8487-C010 Tissue-Tek Genie® DUO anti-p40 [BC28] / Napsin A [EP205] Antibody Cocktail, prêt à l'emploi, 10 capsules ; 1 paquet.

REF 8487-M100 Tissue-Tek Genie® DUO anti-p40 [BC28] / Napsin A [EP205] Antibody Cocktail, prêt à l'emploi, 100 tests, 1 cartouche ; 1 unité.

REMARQUE : La fiche de données de sécurité (FDS) est disponible en ligne sur le site web de Sakura Finetek USA à l'adresse www.sakuraus.com/SDS.html

Références

1. Tacha D, et al. Arch Pathol Lab Med. 2014; 138:1358-1364.
2. Bishop JA, et al. Mod Pathol. 2012; 25:405-415.
3. Yatabe Y, et al. J Thorac Oncol. 2019; 14: 377-407.
4. Pelosi G, et al. J Thorac Oncol. 2012; 7:281–290.
5. Nonaka D. Am J Surg Pathol 2012; 36:895–899.
6. Vogt AP, et al. Diagn Cytopathol. 2014; 42: 453-458.
7. Nobre AR, et al. Acta Cytol. 2013; 57:1-8.
8. Dvorak K, et al. Int J Clin Exp Pathol. 2016; 9:2693-2701.
9. Sailer V, et al. Virchows Arch. 2015; 467:67-70.
10. Karni-Schmidt O, et al. Am J Pathol. 2011; 178:1350-1360.
11. Turner BM, et al. Arch Pathol Lab Med. 2012; 136:163-171.
12. Gurda GT, et al. Clin Transl Med. 2015; 4:16.
13. Micke P, et al. J Thorac Oncol. 2016; 11:862-872.
14. Ikeda S, et al. Oncol Lett. 2015; 9:2099-2104.
15. Zhao W, et al. Int J Clin Exp Pathol. 2014; 7: 4247-4253.
16. Brown AF, et al. Arch Pathol Lab Med. 2013; 137:1274–1281.



Numéro de catalogue



Code de lot



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Limitation de température



Date limite d'utilisation



Fabricant



Consultez les instructions d'utilisation



Conformité européenne



Représentant agréé dans la Communauté européenne

Symboles

Contact

Pour les États-Unis, contactez Sakura Finetek USA, Inc. en appelant gratuitement le **1-800-725-8723** ou contactez un représentant ou distributeur agréé Sakura Finetek.

En dehors des États-Unis, contactez le représentant ou distributeur agréé Sakura Finetek le plus proche. Les coordonnées sont précisées sur le site www.sakura.com

Stockage : 2 °C  8 °C



	Sakura Finetek USA, Inc. 1750 W 214 th Street Torrance, CA 90501 États-Unis
	Sakura Finetek Europe B.V. Flemingweg 10a 2408 AV Alphen aan den Rijn Pays-Bas
Fabriqué aux États-Unis	

GS-33520 Rév. A