

Rabbit monoclonal antibody against PRAME (Klon QR005)

In Vitro Diagnostic Use (IVD)

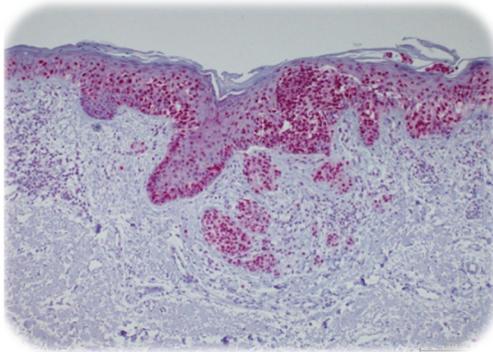


Abbildung 1 Oberflächlich streuendes malignes Melanom gefärbt mit Anti-PRAME (QR005)

Produktbezeichnung

C-P003-025	25 µl Konzentrat
C-P003-01	0.1 ml Konzentrat
C-P003-05	0.5 ml Konzentrat
C-P003-10	1 ml Konzentrat
P-P003-30	3 ml Gebrauchsfertig
P-P003-70	7 ml Gebrauchsfertig
P-P003-150	15 ml Gebrauchsfertig

Verwendungszweck

Anti-human Antikörper für die *In-vitro*-Diagnostik. Der primäre Antikörper ist für den qualitativen Nachweis assoziierter Antigene bestimmt, wie im Abschnitt „Zusammenfassung und Erklärung“ aufgeführt. Er ist für die Verwendung im Rahmen eines immunhistochemischen (IHC) Verfahrens auf formalinfixierten, paraffineingebetteten (FFPE) Gewebeschnitten mit anschließender lichtmikroskopischer Visualisierung zur Unterstützung der Tumordiagnose vorgesehen. Der Antikörper kann manuell oder mit jeder automatisierten Färbepattform verwendet werden.

Der Nachweis mit dem Antikörper darf nur durch Fachpersonal durchgeführt werden. Die Ergebnisse müssen von qualifizierten Pathologen unter Verwendung geeigneter Kontrollen sowie unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten ausgewertet werden.

Zusammenfassung und Erklärung

PRAME ist ein tumorassoziiertes Antigen, das bevorzugt auf den Kernen von neoplastischen Melanozyten exprimiert wird. Anti-PRAME soll daher eine hilfreiche Zusatzuntersuchung für Situationen sein, in denen Antikörper gegen Hmb-45, Melan A und SOX10 keine ausreichenden Informationen zur Unterscheidung zwischen gutartigen und bösartigen melanozytären Läsionen liefern. PRAME wird nicht nur von Melanomen, sondern auch von verschiedenen nicht-melanozytären Neoplasmen exprimiert, darunter nicht-kleinzelliger Lungenkrebs (NSCLC), Brustkrebs, Nierenkrebs, Eierstockkrebs, Leukämie, synoviales Sarkom und myxoides Liposarkom. Normale Gewebe weisen eine geringe oder keine Expression auf, außer Hoden, Eierstöcke, Plazenta, Nebennieren und Endometrium.

Verfahrensprinzip

Der Primärantikörper dient der immunhistochemischen Färbung formalinfixierter, in Paraffin eingebetteter Gewebeschnitte auf Grundlage der spezifischen Antigen-Antikörper-Reaktion. Bei Verwendung eines an Meerrettichperoxidase (HRP) oder alkalischer Phosphatase (AP) gekoppelten Detektionssystems erfolgt die Visualisierung des Antigens durch spezifische Bindung des Primärantikörpers. An den Primärantikörper wiederum bindet der Sekundärantikörper. Dieser Komplex wird anschließend durch den Enzymkomplex markiert. Eine Farbreaktion an der Antigenstelle entwickelt sich durch die Umsetzung der verwendeten Substrat-Chromogen-Lösung. Innerhalb der Prozedur sind genaue Inkubationszeiten und -temperaturen einzuhalten und Waschschritte durchzuführen. Letzter Schritt ist die Gegenfärbung. Schließlich kann das Ergebnis unter dem Lichtmikroskop beurteilt werden.

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien

Primärantikörper	PRAME (QR005)
Wirt	Kaninchen
Unterklasse	IgG
Immunogen	Synthetisches Peptid aus PRAME
Antikörperkonzentrat	Konzentrierter Antikörper in TRIS (pH 7,4) mit < 0,1 % Natriumazid
Empfohlene Verdünnung für die Arbeitslösung	1:50 – 1:100
Gebrauchsfertiger Antikörper	Vorverdünnter Antikörper in TRIS (pH 7,4) mit < 0,1 % Natriumazid

Auf dem Produktetikett ist die Chargennummer hinterlegt.

Der vorverdünnte Antikörper ist gebrauchsfertig und wurde für die Färbung optimiert. Es ist keine weitere Verdünnung, Rekonstitution, Mischung oder Titrierung erforderlich.

Das Antikörperkonzentrat wurde für eine Verdünnung mit ProTaq[®] Antibody Diluent für IHC (Art.-Nr. 400100295) optimiert. Der angegebene Verdünnungsbereich ist als Empfehlung zu betrachten und ist von verschiedenen Faktoren abhängig (Gewebe, Fixierung, Inkubationsbedingungen etc.). Die optimale Verdünnung ist laborintern zu validieren.

Zusätzlich erforderliches aber nicht mitgeliefertes Material

- Positiv- und Negativkontrollen
- Objektträger (positiv geladen) und Deckgläser
- Färbegestelle
- Stoppuhr
- Xylol oder Xylolersatz, z.B. Q Dewax Solution (Art.-Nr. 400301105)
- Ethanol
- Destilliertes Wasser
- Heizausrüstung für die Gewebepreparierung
- Antikörperverdünnungslösung, z.B. Q Diluent für IHC (Art.-Nr. 400100295)
- Antigendemaskierungsreagenz, z.B. Q Retrieval Low pH 6.0 (Cat. No. 401602092) oder Q Retrieval High pH 9.0 (Cat. No. 401602392)
- Detektionssystem, z.B. PolyQ Stain kits und entsprechendes Chromogen
- Waschlösungen; TBS (Art.-Nr. 402000192) oder TBS-Tween20 (Art.-Nr. 402000492)
- Blockierungsreagenz
- Hämatoxylin
- Eindeckmedium
- Lichtmikroskop

Lagerung und Handhabung

Bei 2 – 8 °C lagern.

Der Antikörper ist bei korrekter Lagerung bis zu dem auf dem Fläschchen aufgedruckten Mindesthaltbarkeitsdatum stabil. Dies gilt auch für die Haltbarkeit nach Anbruch. Nach Ablauf des Verfallsdatums ist das Reagenz nicht mehr zu verwenden.

Um die ordnungsgemäße Abgabe der Reagenzien und die Stabilität des Antikörpers zu erhalten, muss nach jedem Gebrauch die Verschlusskappe aufgesetzt und das Fläschchen sofort in aufrechter Position kaltgestellt werden.

Probenvorbereitung

Geeignet für die Verwendung des Antikörpers sind formalinfixierte, paraffineingebettete Gewebeschnitte, die entsprechend der Laborroutinemethode verarbeitet wurden. Als Fixiermittel wird 10 % neutral-gepuffertes Formalin empfohlen. Infolge verlängerter Gewebefixierung oder besonderer Prozesse wie bei der Dekalkifikation von Knochengewebe können unterschiedliche Ergebnisse auftreten. Die Schnittdicke sollte bei 2 – 5 µm liegen. Eine Vorbehandlung der entparaffinierten Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung (HIER) wird empfohlen. Präparate sollten schnellstmöglich gefärbt werden, da die Antigenizität mit der Zeit abnimmt. Die bestmöglichen Verfahren werden vom Verwender bestimmt und verifiziert.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Anwendung nur durch geschultes und qualifiziertes Fachpersonal.
2. Bei bestimmungsgerechter Anwendung ist das Produkt nicht als Gefahrstoff eingestuft, sodass keine gesundheitliche Gefährdung zu erwarten ist. Das Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich.
3. Das Produkt enthält Natriumazid als Konservierungsmittel. Natriumazid ist in reiner Form toxisch. Die Konzentration im Produkt ist < 0,1 % und damit nicht als gefährlich klassifiziert.
4. Die Reagenzien nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.
5. Angemessene Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit Reagenzien treffen. Bei den Arbeiten entsprechende Schutzkleidung tragen.
6. Die Abfallentsorgung entsprechend den örtlichen, staatlichen und bundesstaatlichen Normen regeln. Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs müssen als biologische Gefahrstoffe behandelt und mit den notwendigen Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden.
7. Mikrobielle Kontamination der Reagenzien vermeiden, da dies zu falschen Ergebnissen führen kann.

Färbeverfahren

Der Primäntikörper wurde für die Verwendung in Kombination mit den PolyQ Stain Detektionskits optimiert. Die folgenden Angaben sind Empfehlungen. Durch Unterschiede in der Gewebefixierung und Aufbereitung sowie durch allgemeine Merkmale der verwendeten Laborgeräte und herrschenden Laborbedingungen, kann es erforderlich sein, die Inkubationszeiten anzupassen. Das bestmögliche Verfahren wird vom Anwender bestimmt und verifiziert.

Antigendemaskierung: HIER; Gewebeschnitte in Q Retrieval für 20 min kochen, anschließend für 20 min bei Raumtemperatur (RT) abkühlen.

Inkubation des Primäntikörpers für 30 – 60 min bei RT.

Färbeprotokoll: Die Angaben in der Gebrauchsanweisung des verwendeten Detektionssystems sind zu befolgen.

Verfahren zur Qualitätskontrolle

Positive Gewebekontrolle

Zusammen mit jedem Färbedurchlauf muss eine positive Gewebekontrolle mitgeführt werden zur Überprüfung der korrekten Leistung des verarbeiteten Gewebes und der Reagenzien. Bekannte positive Gewebekontrollen sollten nicht als Hilfsmittel zur Bestimmung einer spezifischen Diagnose einer Patientenprobe verwendet werden. Wenn mit der positiven Gewebekontrolle keine angemessene positive Färbung erbracht werden kann, müssen die Ergebnisse mit den Patientenproben als ungültig betrachtet werden.

Beispiel für positives Kontrollgewebe:

- Hoden (unreife Keimzellen müssen eine positive Kernfärbung aufweisen)
- Melanom (maligne neoplastische Melanozyten müssen eine positive Kernfärbung aufweisen).

Negative Gewebekontrolle

Negative Gewebekontrollen sollen auf unspezifische Färbungen hinweisen. Bei spezifischer Färbung in der Negativkontrolle müssen die Ergebnisse mit den Patientenproben als ungültig betrachtet werden.

Die Vielzahl der in den meisten Geweben vorkommenden Zellarten bietet Stellen zur internen Negativkontrolle, sodass für die negative Gewebekontrolle das gleiche Gewebe verwendet werden kann wie für die positive Gewebekontrolle.

Beispiel für interne negative Gewebekontrolle:

- Hoden (reife Keimzellen müssen eine negative Kernfärbung aufweisen)
- Melanom (Plattenepithelien müssen eine negative Kernfärbung aufweisen)

Abweichungen

Wenn die Ergebnisse der Qualitätskontrolle die Spezifikationen nicht erfüllen, sind die Patientenergebnisse ungültig. Das Problem muss identifiziert und behoben werden (siehe Abschnitt „Fehlersuche und Hinweise“). Anschließend kann das gesamte Verfahren mit den Patientenproben wiederholt werden.

Negatives Kontrollreagenz

Für jede Probe wird anstelle des Primäntikörpers ein negatives Kontrollreagenz mitgeführt zur Bewertung unspezifischer Färbung. Wirtsspezies und Inkubationszeit des negativen Kontrollreagenzes sollten entsprechend des Primäntikörpers sein.

Interpretation der Ergebnisse

Am Ende der Durchführung steht ein farbiges Reaktionsprodukt an der vom Primäntikörper lokalisierten Antigenstelle.

Zelluläre Lokalisation: Zellkern, Zytoplasma in Talgdrüsen.

Von einem qualifizierten Pathologen werden zunächst Positiv- und Negativkontrollen bewertet. Wenn die Kontrollobjektträger geeignet sind, kann mit der Auswertung der Patientenproben begonnen werden.

Die Intensität der positiven Färbung muss unter Berücksichtigung der Hintergrundfärbung der negativen Reagenzkontrolle bewertet werden.

Zu beachten ist: Ein negatives Ergebnis bedeutet zwar, dass das fragliche Antigen nicht nachgewiesen wurde, nicht jedoch, dass das Antigen nicht in den untersuchten Zellen/Geweben vorhanden ist. Zur Unterstützung der Ergebnisse kann unter Umständen ein Antikörper-Panel verwendet werden. Zusätzlich sollte die Morphologie aller Gewebeprobe mit Hilfe eines Hämatoxylin/Eosin gefärbten Schnittes untersucht werden. Die Interpretation der morphologischen Befunde der Patientenproben sowie der klinischen Daten darf nur durch einen qualifizierten Pathologen erfolgen.

Leistungsmerkmale

Der Antikörper wurde mittels IHC auf humanen FFPE-Gewebeschnitten aus verschiedenen Arten von gesunden und neoplastischen Gewebe validiert.

Tabelle 1 Test von gesunden formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten

Gewebe	Positive /alle Fälle
Nävus	1/16
Hoden	2/2
Kolon	0/2
Tonsille	0/2
Lymphknoten	0/1
Leber	0/1

Tabelle 2 Test von neoplastischen formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten

Gewebe	Positive/alle Fälle
Malignes Melanoma	21/21
Brustkarzinom	3/3
Talgdrüsenläsionen	4/4

Der Antikörper hat alle analytischen Leistungstests bestanden. Der Antikörper ist hochspezifisch und hochempfindlich. Die Richtigkeit der Methode wird bestätigt, da die Ergebnisse des zu bewertenden Produkts und des Referenzantikörpers/äquivalenten Produkts vollständig übereinstimmen. Die Methode hat ein hohes Maß an Präzision – die Wiederholbarkeit innerhalb des Laufs, die Reproduzierbarkeit zwischen den Läufen und die Reproduzierbarkeit von Charge zu Charge werden bestätigt. Die Richtigkeit und Präzision führen zu einer hohen Messgenauigkeit des Verfahrens.

Nach Vergleich mit Quellen klinischer Leistungsdaten färbt der Antikörper normale Gewebe sowie neoplastische Gewebe wie in der Literatur angezeigt.

Anwendungsgrenzen und Einschränkungen

1. Irrtümer vorbehalten. Dieses Datenblatt enthält allgemeine Informationen.
2. Zur *In-vitro*-Diagnostik.
3. Nur für Laborzwecke.
4. Dieses Reagenz ist „nur für den professionellen Gebrauch“, da die Immunhistochemie ein komplexer Prozess ist, der eine spezielle Schulung in der Auswahl der geeigneten Reagenzien, Gewebe, Fixierung und Aufbereitung, bei der korrekten Vorbereitung des Objektträgers, der Wahl des Nachweissystems und Interpretation der Färbeergebnisse erfordert.
5. Die Gewebefärbung hängt von der Handhabung, Verarbeitung und Lagerung des Gewebes vor der Färbung ab. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten,

Antikörpereinschlüssen oder falschen Ergebnissen führen. Eine optimale Leistung erfordert eine angemessene Probenqualität sowie eine geeignete Probenvorbereitung.

6. Übermäßige oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.
7. Falsch positive Ergebnisse können aufgrund einer nicht-immunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten auftreten. Sie können auch durch Pseudoperoxidase-Aktivität (Erythrozyten), körpereigenes Biotin (Beispiel: Leber, Gehirn, Niere) oder körpereigene Peroxidase-Aktivität (Cytochrom C) verursacht werden.
8. Bei Verwendung in Blockierungsschritten können normale Seren aus derselben tierischen Quelle wie die sekundären Antiseren aufgrund der Wirkung von Autoantikörpern oder natürlichen Antikörpern zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen führen.
9. Gewebe von Personen, die mit dem Hepatitis-B-Virus infiziert sind und das Hepatitis-B-Oberflächenantigen enthalten, können mit HRP eine unspezifische Färbung aufweisen.
10. Unerwartete Ergebnisse können aufgrund der biologischen Variabilität der Antigenexpression in Neoplasmen oder anderen pathologischen Geweben auftreten.
11. Die klinische Interpretation von Testergebnissen sollte im Zusammenhang mit der Krankengeschichte des Patienten und anderen diagnostischen Labortestergebnissen bewertet werden. Die Färbung muss in einem zertifizierten, zugelassenen Labor unter der Aufsicht eines qualifizierten Pathologen durchgeführt werden, der für die Bewertung und Sicherstellung der Angemessenheit von Positiv- und Negativkontrollen verantwortlich ist. Der Hersteller haftet nicht für falsche Ergebnisse aufgrund visueller Bewertung.
12. Vorverdünnte Antikörper sind gebrauchsfertig und für die Färbung optimiert. Eine weitere Verdünnung kann zu falschen Ergebnissen führen.
13. Erst nach erfolgreicher Validierung dürfen konzentrierte Reagenzien für den jeweiligen Gebrauch verdünnt werden. Es müssen entsprechende Kontrollen durchgeführt und protokolliert werden.
14. Die Leistung des Produkts wurde ausschließlich mit den in dieser Packungsbeilage angegebenen Verfahren ermittelt, und Änderungen an diesen Verfahren können zu Änderungen der Effizienz führen. Die Nichtanwendung gemäß diesem Datenblatt führt zum Verlust jeglicher Haftung. Jede Änderung des Produkts, der Zusammensetzung, der Implementierung sowie die Verwendung in Kombination mit anderen als den hier empfohlenen Reagenzien ist nicht gestattet; Benutzer sind für diese Änderungen selbst verantwortlich und müssen eine vorherige Validierung durchführen.
15. Die Anwendung in Kombination mit diagnostischen Geräten erfordert eine vorherige Validierung.
16. Wir übernehmen keine Verantwortung für mögliche Schäden, einschließlich Personenschäden, Zeit oder Aufwand oder wirtschaftliche Verluste, die durch dieses Produkt verursacht werden. Unsere Garantie ist auf den für das Produkt bezahlten Preis beschränkt.

Fehlersuche und Hinweise

1. Nur intakte Zellen für die Interpretation der Ergebnisse untersuchen, da degenerierte Zellen unspezifische Färbungen hervorrufen können.
2. Falls keine Färbung erfolgt, ist die Anwendungsreihenfolge der Reagenzien zu

- überprüfen. Den Angaben in der Gebrauchsanweisung ist strikt zu folgen.
- Gewebeschnitte während der Färbung nicht austrocknen lassen.
 - Bei schwacher Färbung auf frisch vorbereitetes Chromogen, Inkubationszeiten und -temperaturen sowie auf gutes Abtupfen der Lösungen während der Färbeschritte achten.
 - Überschüssige Hintergrundfärbung durch gute Entfernung des Paraffins, gute Spülung der Gewebeschnitte und optimale Verdünnung des Primärantikörpers vermeiden. Übermäßige Hintergrundfärbung kann durch hohe Spiegel an endogenem Biotin auftreten (es sei denn ein biotin-freies Detektionssystem wurde verwendet). Es sollte ein Verfahren zur Blockierung von Biotin durchgeführt werden.
 - Natriumazid inaktiviert Meerrettichperoxidase, was zu falschen Ergebnissen führen kann. Die Gewebeschnitte immer in natriumazidfreien Puffer waschen.
 - Bei weiteren Unklarheiten können Sie sich mit dem quartett Kundendienst in Verbindung setzen.

	Bestellnummer Catalog number		Verwendbar bis Use by
	Chargenbezeichnung Batch code		Temperaturbegrenzung Temperature limitation
	In Vitro Diagnostika In vitro diagnostic agent		Gebrauchsanweisung beachten Consult instructions for use
	Hersteller Manufacturer		

Literatur

- [1] Ikeda H, Lethé B, Lehmann F et al. (1997): Characterization of an antigen that is recognized on a melanoma showing partial HLA loss by CTL expressing an NK inhibitory receptor. *Immunity*. 6(2):199-208.
- [2] Lezcano C, Jungbluth AA, Nehal KS et al. (2018): PRAME Expression in Melanocytic Tumors. *Am J Surg Pathol*. 42(11):1456-65.
- [3] Nettersheim D, Arndt I, Sharma R (2016): The cancer/testis-antigen PRAME supports the pluripotency network and represses somatic and germ cell differentiation programs in seminomas. *Br J Cancer*. 115(4):454-64.

Vertrieb

quartett Biotechnologie GmbH
Am Mühlenberg 11, 14476 Potsdam, Germany
Tel: +49 (0)30 765 925-0 • Fax: +49 (0)30 765 925-55
service@quartett.com • www.quartett.com

Hersteller



biocyc Biotechnologie GmbH & Co. KG
Am Mühlenberg 11, 14476 Potsdam, Germany
cert. by TÜV Rheinland Group
ISO 13485 & ISO 9001
Tel: +49 (0)331 967 826-00

Sollten bei Verwendung des Produktes technische oder leistungsbezogene Probleme auftreten, ist der Hersteller oder eine zuständige Behörde zu kontaktieren.

Jeder schwerwiegende Vorfall, der im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten ist, muss dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Benutzer und/oder der Patient niedergelassen ist, gemeldet werden.

Datum der Herausgabe oder Überarbeitung

08.03.2023
Vorgenommene Änderung(en): Komplette Revision

Erläuterung der Symbole