

IgG4 抗体试剂 (免疫组织化学)

产品说明书

【产品名称】

IgG4 抗体试剂 (免疫组织化学)

【包装规格】

0.01 mL/盒、0.2mL/盒、1 mL/盒。

【预期用途】

在常规染色 (如: HE 染色) 基础上进行免疫组织化学染色, 为医师提供诊断的辅助信息。

【检验原理】

本试剂盒基于免疫组织化学检测原理: 切片经抗原热修复处理后与一抗体进行孵育, 在原位形成一抗与目标抗原的抗原-抗体复合物; 抗原-抗体复合物中一抗分子再与辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的聚合物二抗通过孵育结合, 在原位进一步形成抗原-抗体-二抗聚合物的复合物; 最后通过 HRP 催化二氨基联苯胺 (DAB) 在抗原部位形成棕色沉积物。光学显微镜下通过观察棕色部位来确定是否有目标抗原及其表达情况。

【主要组成成分】

本品为纯化抗体经抗体稀释液配制而成。所含的抗体为兔抗人 IgG4 单克隆抗体, 克隆号: EP138, 建议稀释比 1:50-100。

(注: 该稀释比为按照本说明书推荐的试剂、方法测试时的建议参数, 实际使用时会由于实验室差异而有所不同, 建议客户在使用前预先对该浓缩抗体进行检测, 以确定适合的最佳稀释度)

需要但未提供的试剂:

- 1、TBS 缓冲液: 1000mL 溶液中含 6.06g Tris、0.88g NaCl、0.5mL Tween20 调 pH 至 7.5±0.2 的水溶液。
- 2、DAB 染色液: DAB 染色液 (基因科技 (上海) 股份有限公司生产, 沪闵械备 20140019 号)。
- 3、抗原修复液: 免疫组化抗原修复缓冲液/脱蜡热修复液 (基因科技 (上海) 股份有限公司生产, 沪闵械备 20140004 号/沪闵械备 20160012 号)。
- 4、盐酸酒精溶液: 每 1000mL 含 980mL 75% 酒精和 20mL 浓盐酸。
- 5、塑料湿盒
- 6、塑料染色缸、染色架
- 7、蒸馏水、酒精、二甲苯
- 8、苏木素染液
- 9、中性树胶、盖玻片
- 10、阳性对照片

【储存条件及有效期】

储存条件: 2~8℃, 有效期 18 个月。

生产日期、有效期至: 见标签。

【样本要求】

医院临床取材的组织标本离体后, 应立即浸泡在含 10% 中性福尔马林的固定液中固定, 固定时间为 12-24 小时。参照《临床技术操作规范 病理学分册》中要求进行常规取材、脱水、透明、浸蜡、石蜡包埋并制成蜡块。

组织蜡块应切成厚度为 3-4μm 的组织切片, 黏附在多聚赖氨酸玻片上, 进行常规烤片后, 放置冷却至室温。样本组织切片制备后保存条件为避光、室温, 但为了良好地重现组织中抗原分布情况, 要在 30 天内完成染色。

【检验方法】

抗体工作液的准备:

用抗体稀释液, 按照实验室确定的稀释比配制抗体工作液。

操作方法:

- 1、石蜡切片经常规脱蜡和水化后, TBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。
- 2、组织抗原热修复。
 - a、按照抗原修复液的说明书, 配制 1X 的抗原修复液 (高 pH)
 - b、脱蜡后的石蜡切片置于切片架上, 放入盛有抗原修复液 (高 pH) 的抗原修复盒中, 溶液量以确保组织完全浸没在溶液中为宜。
 - c、抗原修复盒置于高压锅内煮沸, 冒蒸汽后计时 2 分钟后缓慢冷却至室温或按照自动脱蜡抗原修复仪的操作规程进行修复。
- 3、修复后的切片用 TBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。
- 4、除去 TBS 缓冲液, 用阻水笔圈定玻片上的待测组织区域。
- 5、每张切片加非特异性反应阻断剂 1-2 滴 (每滴约 50μL, 视切片大小, 以完全覆盖切片组织为宜), 室温下孵育 10 分钟。TBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。
- 6、除去 TBS 缓冲液, 每张切片加试 1-2 滴 IgG4 抗体工作液 (视切片大小, 以完全覆盖切片组织为宜; 空白对照片请滴加 TBS 缓冲液), 室温孵育 60 分钟。孵育完成后, TBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。
 - a、每批实验建议同时设置阴阳性对照和空白对照, 阳性对照片客户需自备或向本公司购买。
 - b、该实验条件基于使用本公司的 DAB 染色液产品 (沪闵械备 20140019 号)。
- 7、除去 TBS 缓冲液, 每张切片加酶标羊抗鼠/兔 IgG 聚合物 1-2 滴 (每滴约 50μL, 视切片大小, 以完全覆盖切片组织为宜), 反应条件见 DAB 染色液说明书。TBS 缓冲液冲洗 3 分钟×3 次。
- 8、按照 DAB 染色液说明书配制 DAB 工作液, DAB 工作液应现配现用。

- 9、除去 TBS 缓冲液, 每张切片加 100μL 新鲜配制的 DAB 工作液, 室温显色 5-10 分钟 (镜控控制染色)。

- 10、自来水冲洗, 使用苏木素染液复染。

- 11、切片经过脱水, 透明, 常规封片。

- 12、光学显微镜下观察待测组织的染色情况, 染色结果应由有资质的病理医生判断。

注: 为了保证检测质量, 每批实验建议同时设置阴阳性对照和空白对照。

【检验结果的解释】

- 1、在阴阳性对照和空白对照显色正常前提下:
 - 阳性: 组织切片中预期细胞的【细胞浆】部位呈棕色, 无背景染色。
 - 阴性: 组织切片中预期细胞无棕色染色。
- 2、在实验操作正常前提下, 阳性对照出现阴性结果, 则判为假阴性, 该批实验结果无效, 建议重新进行免疫组化实验或者联系试剂生产厂家。导致假阴性结果的原因可能有: 抗原修复不当; 一抗、二抗种属匹配错误; 抗体试剂过期; 质控片放置时间过长等。
- 3、在实验操作正常前提下, 阴性对照出现阳性结果, 则判为假阳性, 该批实验结果无效, 建议重新进行免疫组化实验或者联系试剂生产厂家。导致假阳性结果的原因可能有: 抗原修复过度、抗体孵育时间过长、温度过高、显色时间过长等造成非特异性结合。
- 4、空白对照出现阳性染色结果, 说明试剂使用过程中存在误操作, 该批试验结果无效。建议在排除原因后, 重新进行检测。

影响因素:

- 1、免疫组织化学是一种多步骤的检测过程, 样本处理、试剂选择、实验操作等都有可能影响最终的染色结果, 因此操作者需要经过专业的培训并按《临床技术操作规范·病理学分册》等有关规范性文件操作。
- 2、必须由有经验的病理专家结合临床病史、形态学和其他组织病理学标准来评估染色结果。

【检验方法的局限性】

- 1、免疫组化前任一环节的不规范操作都有可能影响最终的实验结果。
- 2、专业的操作人员、经过认证的实验室将有助于实现检测过程的标准化, 从而减少由于各种外界因素造成的染色偏差。
- 3、在免疫组化测试中如出现阴性结果, 表示未检测出抗原, 而不是经测定的细胞或者组织中不存在该抗原。

【产品性能指标】

产品性能符合本企业制定的产品技术要求。

【注意事项】

- 1、本试剂仅用于体外诊断, 不作其他用途。
- 2、开始实验前, 应仔细阅读此说明书。
- 3、请在试剂有效期内使用。
- 4、本试剂仅限有专业经验或经专业培训的人员使用。
- 5、若将本产品中的组分和其他公司的产品混合使用, 染色过程中可能出现异常情况。
- 6、实验过程中的二甲苯和梯度酒精应定期更换, 以免影响检测效果。
- 7、避免试剂接触眼睛和粘膜, 如接触到敏感区域, 立即用大量清水冲洗。
- 8、每次检测均应设置阴阳性对照品及空白对照。

【参考文献】

- 1、Sakata N, et al. IgG4-positive plasma cells in inflammatory abdominal aortic aneurysm: the possibility of an aortic manifestation of IgG4-related sclerosing disease. Am J Surg Pathol. 2008; 32:553-9.
- 2、Dhobale S, et al. IgG4 related sclerosing disease with multiple organ involvements and response to corticosteroid treatment. J Clin Rheumatol. 2009; 15:354-7.
- 3、中华医学会.《临床技术操作规范·病理学分册》.人民军医出版社, 2004

【基本信息】

注册人/生产企业: 基因科技 (上海) 股份有限公司

住 所: 上海市闵行区紫月路 505 号 邮 编: 200241

电 话: 021-67285000 传 真: 021-67285900

网 址: www.genetech.com.cn

售后服务单位: 基因科技 (上海) 股份有限公司

生产地址: 上海市闵行区紫竹高新技术产业开发区紫月路 505 号 1 号楼 A 区 1-2 层

医疗器械生产备案凭证编号: 沪闵食药监械生产备 20121840 号

【医疗器械产品备案凭证编号/产品技术要求编号】沪闵械备 20190095 号

【说明书核准日期及修改日期】

第一次修改日期: 2020.4.13

核准日期: 2019.7.4