

**FLEX**  
**Monoclonal Mouse**  
**Anti-Human**  
**Tyrosinase**  
Clon T311  
**Ready-to-Use**  
(Link)

**N° de catálogo IR061**

**Uso previsto**

Para uso en diagnóstico in vitro.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human E-Cadherin, Clon T311, Ready-to-Use, (Link), está indicado para su uso en inmunohistoquímica junto con los instrumentos Autostainer Link. Este anticuerpo resulta útil para la identificación de lesiones melanocíticas y melanoma. La interpretación clínica de los resultados de cualquier tinción, o su ausencia, debe complementarse con estudios morfológicos con controles adecuados y debe evaluarla un patólogo calificado dentro del contexto de la historia clínica del paciente y de otras pruebas diagnósticas.

**Sinónimos del antígeno**

T311; EC 1.14.18.1.

**Ingreso de datos y explicación**

La tirosinasa es una glucoenzima de cobre implicada en la producción de los pigmentos de la melanina, incluida la eumelanina y la feomelanina (1,3). En este proceso, la tirosinasa cataliza la hidroxilación de la L-tirosina a la L-dopa y la oxidación de la L-dopa a la L-dopaquinona (1,3). Como marcador del linaje melanocítico, la tirosinasa se localiza en los melanocitos que se pueden encontrar en la zona de unión dérmica/epidérmica de la piel normal, pero no se detecta en otras células normales (2). También contienen melanocitos las partes pigmentadas del ojo, como la coroides y el iris. La expresión de la tirosinasa se encuentra también en las lesiones melanocíticas, incluidos los nevos benignos y la mayor parte de los melanomas malignos primarios y metastásicos, pero no en los tumores no melanocíticos (2,4,5). Además, las células T citotóxicas autólogas de los pacientes con melanoma pueden reconocer la tirosinasa y, por lo tanto, los péptidos de la tirosinasa son útiles en las vacunas para los melanomas (6,7).

Consulte las *Instrucciones generales para la tinción inmunohistoquímica* de Dako o las instrucciones del sistema de detección de los procedimientos de IHQ para: (1) Principio del procedimiento, (2) Material necesario pero no suministrado, (3) Almacenamiento, (4) Preparación de la muestra, (5) Procedimiento de tinción, (6) Control de calidad, (7) Solución de problemas, (8) Interpretación de la tinción y (9) Limitaciones generales.

**Reactivo suministrado**

Se suministra anticuerpo de ratón monoclonal listo para su uso en forma líquida en un tampón que contiene proteína estabilizadora y 0,015 mol/L de NaN<sub>3</sub>.

Clon: T311. Isotipo: IgG<sub>2a</sub>, kappa.

**Inmunógeno**

Proteína de tirosinasa no glicosilada purificada recombinante compuesta por 452 aminoácidos de la proteína de la tirosinasa humana madura de 511 aminoácidos (1)

**Especificidad**

La inmunotransferencia se realizó con células L transfectadas con gen de tirosinasa y en cuatro líneas de células que expresan el ARNm de la tirosinasa: SK-MEL-13, SK-MEL-19, SK-MEL-30 y SK-MEL-37 (1). Compatible con informes anteriores, el clon T311 reconoció un grupo de proteínas con un peso de 70–80 kDa en inmunotransferencias de las cinco líneas de células (1). Se tiñó una banda adicional de 55 kDa en transferencias de líneas celulares muy reactivas (SK-MEL-19) (1). Además, las inmunotransferencias de células L no transfectadas y tres líneas de células que no expresan el ARNm de la tirosinasa (MZ2-MEL3.1, SK-MEL-187 y MZ2-MEL2.2) fueron negativas con el clon T311 (1). Las células L transfectadas con la proteína 1 relacionada con la tirosinasa, TRP-1(gp75), tampoco fueron reactivas con el clon T311 en ensayos de inmunofluorescencia e inmunotransferencia, lo cual indica que el anticuerpo no tiene reactividad cruzada con la proteína asociada a los melanosomas, TRP-1(gp75) (1).

**Precauciones**

1. Para usuarios profesionales.
2. Este producto contiene azida de sodio (NaN<sub>3</sub>), un compuesto químico altamente tóxico en su forma pura. Aunque a las concentraciones presentes en el producto no está clasificada como peligrosa, la azida de sodio puede reaccionar con cañerías de plomo y cobre formando acumulaciones de azidas metálicas altamente explosivas. Una vez desechado, deje correr abundante cantidad de agua para evitar acumulaciones de azidas metálicas en las cañerías.
3. Al igual que con cualquier producto de origen biológico, deberán aplicarse los procedimientos de manipulación adecuados.
4. Utilice el equipo de protección personal adecuado para evitar el contacto con los ojos y la piel.
5. La solución que no se utilice deberá desecharse de acuerdo con las normativas locales, provinciales y nacionales.

<b>Almacenamiento</b>	<p>Almacenar a 2–8 °C. No utilizar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si los reactivos se almacenan en condiciones diferentes a las especificadas, el usuario debe comprobar dichas condiciones. No existen signos evidentes que indiquen inestabilidad de este producto. Por lo tanto, los controles positivo y negativo deberán analizarse de manera simultánea con las muestras del paciente. En caso de observarse una coloración inesperada que no puede ser explicada por las variaciones en los procedimientos del laboratorio y se sospeche la existencia de un problema con un anticuerpo, comuníquese con la Asistencia Técnica de Dako.</p>
<b>Preparación de las muestras, incluido material necesario pero no suministrado</b>	<p>El anticuerpo se puede utilizar para marcar secciones de tejido fijadas con formol e incluidas en parafina. Las muestras de tejido deben cortarse en cortes de aproximadamente 4 µm.</p> <p>Se requiere el pretratamiento con recuperación del epítipo inducida por calor (HIER). Se consiguen resultados óptimos al pretratar los tejidos con EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x) (Link) (nº de catálogo K8000/K8004).</p> <p><u>Cortes desparafinados:</u> Se recomienda el tratamiento previo de los cortes de tejido desparafinados fijados en formol e incluidos en parafina usando Dako PT Link (nº de catálogo PT100/PT101). Para más detalles, consulte la Guía del usuario del PT Link.</p> <p>Siga el procedimiento de pretratamiento explicado en el prospecto de EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x) (Link) (nº de catálogo K8000/K8004). Se deben aplicar los siguientes parámetros para el PT Link: Temperatura de precalentamiento: 65 °C; temperatura y tiempo de recuperación del epítipo: 97 °C para 20 (±1) minutos; enfriar a 65 °C. Enjuagar las secciones con EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x) (Link) (nº de catálogo K8000) diluido a temperatura ambiente.</p> <p><u>Cortes incluidos en parafina</u> Como método alternativo de preparación de una muestra, tanto el desparafinado como la recuperación del epítipo se pueden realizar en el PT Link con un procedimiento modificado. Ver instrucciones en la Guía del usuario de PT Link. Después de finalizado el procedimiento de tinción, se deben deshidratar, enjuagar y montar los cortes usando un medio de montaje permanente.</p> <p>Los cortes de tejido no se deben secar durante el tratamiento ni durante el siguiente procedimiento de tinción inmunohistoquímica. Para una mejor adherencia de los cortes de tejidos a los portaobjetos, se recomienda el uso de Dako Silanized Slides (nº de catálogo S3003).</p>
<b>Procedimiento de tinción, incluido material necesario pero no suministrado</b>	<p>El sistema de visualización recomendado es EnVision™ FLEX, High pH (Link) (nº de catálogo K8000). Los pasos de tinción y los tiempos de incubación han sido preprogramados en el software del Autostainer Link. Consulte la Guía del usuario del Autostainer Link para ver las instrucciones detalladas sobre la carga de portaobjetos y reactivos. Si no hay protocolos disponibles sobre la plataforma de Autostainer utilizado, póngase en contacto con los Servicios Técnicos de Dako. Todos los pasos de incubación deben realizarse a temperatura ambiente.</p> <p>Las condiciones óptimas pueden variar de acuerdo con la muestra y del método de preparación, y deberán determinarse individualmente en cada laboratorio. Si el patólogo encargado de la evaluación desea otra intensidad de tinción, se puede solicitar información a un especialista en aplicaciones de Dako o a un especialista del servicio técnico para reprogramar el protocolo. Verifique que el resultado del protocolo ajustado siga siendo válido confirmando que el patrón de tinción sea idéntico al descrito en "Características de resultados".</p> <p>Se recomienda la contratinción en hematoxilina usando EnVision™ FLEX Hematoxylin (Link) (nº de catálogo K8008). Se recomienda un medio de montaje no acuoso permanente.</p> <p>Los controles positivo y negativo deberán realizarse de manera simultánea empleando el mismo protocolo que para las muestras del paciente. El control positivo de tejido debe incluir melanocitos de la capa basal, y las células/estructuras deben exhibir patrones de reacción como se describe para este tejido en "Características de resultados" en todas las muestras positivas. El reactivo de control negativo recomendado es FLEX Negative Control, Mouse (Link) (nº de catálogo IR750).</p>
<b>Interpretación de la tinción</b>	<p>El patrón de tinción celular es citoplasmático y/o perinuclear.</p>
<b>Características de resultados</b>	<p><u>Tejidos normales:</u> Se analizó un panel de 33 tejidos normales con anti-Tyrosinase, clon T311, mediante inmunohistoquímica, y sólo fue positiva la piel (2). En la piel normal, los melanocitos fueron inmunorreactivos, mientras que los queratinocitos basales de la piel fueron negativos (1,2).</p> <p><u>Tejidos anormales:</u> Se analizó el clon T311 con lesiones melanocíticas benignas y malignas y se encontró que tiñe la mayoría de los nevos benignos y los melanomas analizados. Se observó una baja inmunorreactividad de la tirosinasa en los melanomas de las células desmoplásicas y fusiformes (1,2,4,5). Se ha demostrado la especificidad de la anti-Tyrosinasa para las lesiones melanocíticas mediante la inmunotinción de más de 70 tipos diferentes de tumores no melanocíticos sin que se encontrase inmunorreacción, lo cual indica que la expresión de la tirosinasa se limita a las células de linaje melanocítico (2).</p>

**Referencias bibliográficas**

1. Chen YT, Stockert E, Tsang S, Coplan KA, Old LJ. Immunophenotyping of melanomas for tyrosinase: implications for vaccine development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(18):8125–8129.
2. Jungbluth AA, Iversen K, Coplan K, Kolb D, Stockert E, Chen YT, Old LJ, Busam K. T311-an anti-tyrosinase monoclonal antibody for the detection of melanocytic lesions in paraffin embedded tissues. *Pathol Res Pract* 2000; 196(4):235–242.
3. Garcia-Borron JC, Solano F. Molecular anatomy of tyrosinase and its related proteins: beyond the histidine-bound metal catalytic center. *Pigment Cell Res* 2002; 15(3):162–173.
4. Clarkson KS, Sturdgess IC, Molyneux AJ. The usefulness of tyrosinase in the immunohistochemical assessment of melanocytic lesions: a comparison of the novel T311 antibody (anti-tyrosinase) with S-100, HMB45, and A103 (anti-melan-A). *J Clin Pathol* 2001; 54(3):196–200.
5. Hofbauer GF, Kamarashev J, Geertsen R, Boni R, Dummer R. Tyrosinase immunoreactivity in formalin-fixed, paraffin-embedded primary and metastatic melanoma: frequency and distribution. *J Cutan Pathol* 1998; 25(4):204–209.
6. Slingluff CL Jr, Petroni GR, Yamshchikov GV, Barnd DL, Eastham S, Galavotti H, Patterson JW, Deacon DH, Hibbitts S, Teates D, Neese PY, Grosh WW, Chianese-Bullock KA, Woodson EM, Wiernasz CJ, Merrill P, Gibson J, Ross M, Engelhard VH. Clinical and immunologic results of a randomized phase II trial of vaccination using four melanoma peptides either administered in granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in adjuvant or pulsed on dendritic cells. *J Clin Oncol* 2003; 21(21):4016–4026.
7. Zajac P, Oertli D, Marti W, Adamina M, Bolli M, Guller U, Noppen C, Padovan E, Schultz-Thater E, Heberer M, Spagnoli G. Phase I/II clinical trial of a nonreplicative vaccinia virus expressing multiple HLA-A0201-restricted tumor-associated epitopes and costimulatory molecules in metastatic melanoma patients. *Hum Gene Ther* 2003; 14(16):1497–1510.

 <b>REF</b> Número de catálogo	 Limite de temperatura	 <b>IVD</b> Producto sanitario para diagnóstico in vitro
 Fabricante	 <b>LOT</b> Código de lote	 Contenido suficiente para <n> ensayos
 Fecha de caducidad	 Consulte las instrucciones de uso	 <b>EC REP</b> Representante autorizado en la Comunidad Europea



Dako North America, Inc.  
6392 Via Real  
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655  
Fax 805 566 6688  
Technical Support 800 424 0021  
Customer Service 800 235 5763

**EC REP**

Dako Denmark A/S  
Produktionsvej 42  
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500  
Fax +45 4485 9595  
[www.dako.com](http://www.dako.com)

PT0020/ Rev C

Edición 09/07