

TEST IHC DÉVELOPPÉ EN LABORATOIRE POUR L'ANTICORPS ANTI-PD-L1 22C3 SUR DAKO OMNIS¹

Ce protocole a été développé en utilisant des blocs de tissus fixés au formol et inclus en paraffine (FFPE). Il a été optimisé en ajustant les paramètres suivants : (1) Démasquage des épitopes ; (2) Dilution / concentration de l'anticorps primaire utilisé ; (3) Temps et température d'incubation de l'anticorps primaire ; (4) Système de détection ; (5) Système de révélation / chromogène¹
Les différentes étapes de validation de ce protocole ont été réalisées sur TMA (Tissue MicroArray).

Étapes du protocole :

Des coupes en série (4 µm) ont été effectuées puis montées sur des lames FLEX (Dako K8020), séchées pendant une nuit à température ambiante et chauffées pendant 1h à 60°C immédiatement avant l'immunohistochimie (IHC). Les lames ont ensuite été colorées sur Dako Omnis en utilisant les procédures suivantes :

1. Démasquage des épitopes :

Solution de démasquage EnVision™ FLEX, pH 6,1 (Dako Omnis) (Dako GV805). Incubation pendant 40 min à 97°C.

2. Dilution / concentration de l'anticorps primaire utilisé :

Forme concentrée du clone 22C3 (Dako M3653) diluée au 1:20 dans une solution de diluant EnVision™ FLEX (Dako K8006).

3. Temps et température d'incubation de l'anticorps primaire :

Incubation pendant 40 min à 22°C.

4. Système de détection :

EnVision™ FLEX High pH (Dako Omnis) (Dako GV800) et EnVision™ FLEX + Mouse LINKER (Dako Omnis) (Dako GV821). Incubation pendant 30 min en présence de linker et 30 min en présence de polymère à 22°C.

5. Système de révélation / chromogène :

EnVision™ FLEX DAB + substrat (Dako Omnis) (Dako GV825). Incubation pendant 2x5 min à 22°C.

Référence :

1. Røge R, Vyberg M, Nielsen S. Accurate PD-L1 protocols for non-small cell lung cancer can be developed for automated staining platforms with clone 22C3. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2017 Jul;25(6):381-385.

Les protocoles disponibles dans cet outil ne sont pas exhaustifs. Les tests développés dans le laboratoire ou « tests maison » doivent être validés en comparaison à un test ou kit de référence. Leur calibration doit faire l'objet d'une attention particulière.