

# TEST IHC DÉVELOPPÉ EN LABORATOIRE POUR L'ANTICORPS ANTI-PD-L1 E1L3N SUR VENTANA<sup>1</sup>

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 / chromogène<sup>1</sup>  
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. Les lames sont ensuite colorées sur Ventana BenchMark ULTRA en utilisant un anticorps primaire anti-PD-L1 (clone E1L3N ; Cell Signaling Technology ; CST # 13684 ; RUO\*).

### 1. Démasquage des épitopes :

Solution de démasquage CC1 standard à pH alcalin. Incubation pendant 64 min.

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

Le clone E1L3N est utilisé à la concentration de 17,5 µg/mL.

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

Incubation pendant 16 min à 36°C.

### 4. Système de détection :

L'anticorps primaire est ensuite détecté en utilisant le kit de détection OptiView. La détection enzymatique des anticorps anti-PD-L1 est réalisée avec un anticorps de chèvre anti-souris et une IgG anti-lapin conjuguée au linker universel HQ (OptiView HQ Universal Linker), suivie d'un anti-HQ conjugué à l'HRP (OptiView HRP multimer). Ces étapes sont réalisées selon les conditions standards de l'instrument.

### 5. Système de révélation / chromogène :

Les lames sont ensuite contre-colorées avec de l'hématoxyline pendant 4 min et Bluing Reagent pendant 4 min.

## Référence :

1. Smith et al. ; *Quantitative and qualitative characterization of Two PD-L1 clones: SP263 and E1L3N ; Diagnostic Pathology (2016) 11:44.*

\*RUO pour « Research Use Only » signifie que cet anticorps ne peut normalement pas être utilisé pour le diagnostic.

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.