

Ce protocole 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 / révélation¹

Étapes du protocole :

Les lames sont colorées sur Leica Bond III en utilisant un anticorps primaire anti-PD-L1 (clone E1L3N ; Cell Signaling Technology ; CST # 13684 ; RUO*).

1. Démasquage des épitopes :

Solution de démasquage Leica Bond Epitope Retrieval 2. Incubation pendant 30 min à 21°C.

2. Dilution / concentration de l'anticorps primaire :

L'anticorps E1L3N est dilué au 1:100 dans la solution Bond Antibody Diluent.

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

Incubation pendant 30 min à 21°C.

4. Système de détection / révélation :

Utilisation du kit de détection Leica Bond Refine Polymer Detection Kit (DS9800). Incubation pendant 8 min en présence de linker et 8 min en présence de polymère à 21°C suivi d'une révélation de 10 min à 21°C en présence de DAB.

Référence:

1. NordiQC: http://www.nordiqc.org/protocol_view.php?id=11612

*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.

