

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Gross Cystic Disease Fluid Protein-15
Clone 23A3
Ready-to-Use
(Link)

Kód IR077

Určené použitie	<p>Určené pre in vitro diagnostické účely.</p> <p>Produkt FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Gross Cystic Disease Fluid Protein-15, Clone 23A3, Ready-to-Use (Link) je určený na použitie v imunohistochemii spoločne s prístrojmi Autostainer Link instruments. Táto protilátka je užitočná pri identifikovaní karcinómov prsníka a metastatických tumorov prsníka. Klinická interpretácia ktoréhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť doplnená morfológickou štúdiou pomocou správnych kontrol, a musí sa vyhodnotiť v kontexte klinického prejavu pacienta a iných diagnostických testov realizovaných kvalifikovaným patológom.</p>
Synonymá pre antigén	<p>GCDFP-15, glykoproteín EP-GP (extra-parotid glycoprotein), glykoproteín (gp17), proteín indukujúci prolaktín (PIP), proteín viažuci sekrečný aktín (secretory actin binding protein, SABP) (1).</p>
Súhrn a vysvetlenie	<p>GCDFP-15 je monometrický sekrečný glykoproteín o molekulovej hmotnosti 15 kDa kódovaný pomocou génu <i>PIP</i> v oblasti chromozómu (2, 3). GCDFP-15 je markerom apokrinnej diferenciácie a je exprimovaný v cystickej tekutine prsníka a v apokrinných, slinných, mazovitých, Mollových a vylučovacích žľazách. Sérové bunky submandibulárnych, sublinguálnych a nedospelých slinných žliaz a nazálnych a bronchiálnych žliaz tiež exprimujú GCDFP-15 (4). V IHC testoch bola expresia GCDFP-15 pozorovaná v neoplastických bunkách primárnych a metastatických nádorov prsníka (1,5-8). Imunoreaktivita bola tiež zaznamenaná v karcinómoch slinných žliaz, potných žliaz a prostaty, zatiaľ čo väčšina ostatných zhubných nádorov bola hodnotená ako nereaktívne (7).</p> <p>V kapitolách <i>Všeobecné pokyny pre imunohistochemické farbenie</i> spoločnosti Dako alebo v návode k detekčnému systému pre IHC metódy nájdete tieto časti: 1) Princíp metódy, 2) Potrebné materiály, ktoré nie sú súčasťou dodávky, 3) Skladovanie, 4) Príprava vzorky, 5) Postup farbenia, 6) Kontrola kvality, 7) Odstraňovanie problémov, 8) Interpretácia zafarbenia, 9) Všeobecné obmedzenia.</p>
Dodané činidlá	<p>Monoklonálna myšacia protilátka, pripravená na použitie, v kvapalnej forme v roztoku s obsahom stabilizačného proteínu a 0,015 mol/L azidu sodného.</p> <p><u>Klon:</u> 23A3. <u>Izotyp:</u> IgG2a, kappa.</p>
Imunogén	<p>Rekombinantny proteín odpovedajúci vylučovanej doméne molekuly proteínu GCDFP-15 (gross cystic disease fluid protein, 15 kDa).</p>
Špecifickosť	<p>V testoch Western blotting ľudského bunkového lyzátu MDA-MB-361 značí protilátka pruh o veľkosti 15 kDa odpovedajúci očakávanej molekulovej hmotnosti proteínu GCDFP-15.</p>
Preventívne opatrenia	<ol style="list-style-type: none">1. Určené pre odborníkov.2. Tento výrobok obsahuje azid sodný (NaN₃), ktorý je v čistej forme vysoko toxický. Aj keď koncentrácia azidu sodného vo výrobku nie je klasifikovaná ako nebezpečná, azid sodný môže reagovať s olovom a meďou v odpadovom potrubí a vytvárať vysoko výbušné azidy týchto kovov. Pri likvidácii splachujte dostatočným množstvom vody, aby nedochádzalo k usadzovaniu azidov kovov v potrubí.3. Rovnako ako u každého výrobku biologického pôvodu je nevyhnutné dodržiavať správne postupy pri manipulácii.4. Používajte osobné ochranné prostriedky, aby nedošlo k zasiahnutiu očí alebo pokožky.5. Nespotrebované roztoky je treba likvidovať v súlade s miestnymi a celoštátnymi predpismi.
Skladovanie	<p>Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nepoužívať po uplynutí dátumu expirácie, ktorý je vyrazený na liekovke. Ak sa činidlá skladujú za akýchkoľvek iných než tu uvedených podmienok, používateľ musí dané podmienky preveriť. Neexistujú žiadne známky nestability tohto výrobku. Preto je nevyhnutné vykonávať cykly s pozitívnymi a negatívnymi kontrolnými vzorkami spolu so vzorkami pacienta. Ak spozorujete neočakávané zafarbenie, ktoré nie je možné vysvetliť zmenami laboratórných postupov a máte podozrenie, že ide o problém s protilátkou, obráťte sa na oddelenie technickej podpory spoločnosti Dako.</p>

Príprava vzoriek vrátane potrebného materiálu, ktorý sa nedodáva

Protílátku možno používať na označovanie rezov tkanív zaliatých v parafíne a fixovaných vo formalíne. Tkanivové vzorky by mali byť narezané na časti s približnou hrúbkou 4 µm.

Požaduje sa predbežné spracovanie teplom indukovaným vyhľadávaním epitopu (HIER). Optimálne výsledky sa dosiahnu predbežným spracovaním tkanív pomocou roztoku EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Link) (kód K8000/K8004).

Deparafínované rezy: Na predbežné spracovanie deparafinizovaných, vo formalíne fixovaných a v parafíne zaliatých tkanivových rezov odporúčame použiť nádrž Dako PT Link (kód PT100/PT101). Podrobné informácie nájdete v používateľskej príručke k nádrži PT Link.

Postupujte podľa pokynov o predbežnom spracovaní, ktoré nájdete v príbalovom letáku k roztoku EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (10x), (Link) (kód K8000/K8004). V prípade používania nádrže PT Link je potrebné použiť nasledovné parametre: Teplota predbežného zahriatia: 65 °C; teplota a doba vyhľadávania epitopu: 97 °C pri 20 (±1) minútach; schladenie na 65 °C. Vyberte z nádrže PT Link všetky stojany farbiaceho automatu Autostainer so sklíčkami a sklíčka ihneď ponorte do nádoby/nádrže (napr. oplachovacia stanica PT Link Rinse Station, kód PT109) s obsahom rozriedeného premývacieho roztoku EnVision™ FLEX Wash Buffer (10x), (Link) (kód K8000). Sklíčka ponechajte v premývacom roztoku Wash Buffer po dobu 1 – 5 minút.

Rezy zaliate v parafíne: Deparafinizáciu a vyhľadávanie epitopu možno ako alternatívny spôsob prípravy vzorky vykonať v nádrži PT Link pomocou mierne upraveného postupu. Podrobnejšie informácie nájdete v používateľskej príručke k nádrži PT Link. Po ukončení farbenia musia byť rezy dehydrované, očistené a namontované použitím permanentného montovacieho média.

Rezy tkanív nesmú počas spracovania alebo počas nasledujúceho imunohistochemického farbenia vyschnúť. Z dôvodu vyššej príľnavosti rezov tkanív k podložným sklám sa odporúča používať silanizovaná podložná skla Dako Silanized Slides (kód S3003).

Postup farbenia vrátane potrebného materiálu, ktorý sa nedodáva

Odporúčaným vizualizačným systémom je EnVision™ FLEX, High pH (Link) (kód K8000). Kroky farbenia a inkubačné doby sú v softvéri Autostainer Link už naprogramované. Podrobné inštrukcie k vkladaniu sklíčok a činidiel nájdete v používateľskej príručke k farbiacim prístrojom Autostainer Link. Ak platforma softvéru Autostainer neobsahuje požadované protokoly, obráťte sa na oddelenie technickej podpory spoločnosti Dako. Všetky kroky inkubácie by sa mali vykonávať pri izbovej teplote.

Optimálne podmienky sa môžu odlišovať v závislosti od vzorky a spôsobu prípravy, pričom každé laboratórium by ich malo osobitne stanoviť. Ak hodnotiaci patológ vyžaduje odlišnú intenzitu farbenia, obráťte sa na aplikačného špecialistu alebo špecialistu z oblasti technického servisu spoločnosti Dako, ktorý vám podá informácie o preprogramovaní protokolu. Overte platnosť účinnosti upraveného protokolu – zhodnotte, či je vzor zafarbenia identický so vzorom zafarbenia, ktorého charakteristika sa nachádza v časti „Charakteristiky účinnosti“.

Kontrastné hematoxylinové farbenie odporúčame vykonávať pomocou prípravku EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Link) (kód K8008). Odporúčame použiť permanentné upevňovacie médium bez obsahu vody.

Pozitívne a negatívne kontroly treba vykonávať súčasne použitím rovnakého protokolu ako pri vzorkách pacienta. Tkanivo s obsahom pozitívnej kontrolnej vzorky by malo zahŕňať normálny prsník, pričom bunky/štruktúry by mali vykazovať reakčné vzory v súlade s informáciami, uvedenými pre toto tkanivo v časti „Charakteristiky účinnosti“, a to v prípade všetkých pozitívnych kontrolných vzoriek. Odporúčaným negatívnym kontrolným činidlom je FLEX Negative Control, Mouse, (Link) (kód IR750).

Interpretácia zafarbenia

Vzor zafarbenia buniek je cytoplazmatický. Je možné pozorovať značenie vylučovaného GCDPF-15 v intercelulárnom priestore.

Charakteristiky účinnosti

Normálne tkanivá:












Typ tkaniva (testovaný počet)	Pozitívne zafarbené prvky tkaniva
Nadoblička (2)	0/2
Kostná dreň (1)	0/1
Mozog/malý mozog (3)	0/3
Mozog/veľký mozog (3)	0/3
Prsníky (3)	2/3; glandulárne a duktálne bunky, cytoplazmatický
Cervix (3)	0/3
Hrubé črevo (3)	0/3
Pažerák (2)	0/2
Oblička (3)	0/3
Pľúca (3)	0/3
Mezotelové bunky (2)	0/2
Nerv, periférny (2)	0/2
Vaječníky (2)	0/2

Slinivka brušná (3)	0/3
Prištítne telieska (1)	0/1
Hypofýza (3)	0/3
Prostata (3)	0/3
Slinná žľaza (2)	2/2; sérové žľazy, cytoplazmatický
Pokožka (3)	3/3; potné žľazy, cytoplazmatický
Tenké črevo (2)	0/2
Žalúdok (3)	0/3
Štítna žľaza (3)	0/3
Mandle (2)	0/2
Maternica (3)	0/3

Abnormálne tkanivo: Stredne silné až silné difúzne alebo nerovnomerné zafarbenie bolo pozorované v 24/58 prípadov (41%) primárnych a metastatických karcinómov prsníka a ďalších 25 prípadov zobrazilo slabé alebo fokálne zafarbenie, čo predstavuje celkovú senzitivitu až 84,5 %. V testoch mikroarray s tkanivom karcinómu prsníka preukázala protilátka stredne silné až silné difúzne alebo nerovnomerné zafarbenie na 4/63 jadrách (6 %) a ďalších 8 jadier preukázalo slabé alebo fokálne zafarbenie s celkovou senzitivitou 22 % (9).

Referencie

1. Fritzsche FR, Thomas A, Winzer KJ, Beyer B, Dankof A, Bellach J, Dahl E, Dietel M, Kristiansen G. Co-expression and prognostic value of gross cystic disease fluid protein 15 and mammaglobin in primary breast cancer. *Histol Histopathol* 2007;22:1221-30.
2. Caputo E, Carratore V, Ciullo M, Tiberio C, Mani JC, Piatier-Tonneau D, Guardiola J. Biosynthesis and immunobiochemical characterization of gp17/GCDFP-15. A glycoprotein from seminal vesicles and from breast tumors, in HeLa cells and in *Pichia pastoris* yeast. *Eur J Biochem* 1999;265:664-70.
3. Myal Y, Robinson DB, Iwasio B, Tsuyuki D, Wong P, Shiu RP. The prolactin-inducible protein (PIP/GCDFP-15) gene: cloning, structure and regulation. *Mol Cell Endocrinol* 1991;80:165-75.
4. Viacava P, Naccarato AG, Bevilacqua G. Spectrum of GCDFP-15 expression in human fetal and adult normal tissues. *Virchows Arch* 1998;432:255-60.
5. Haagensen DE Jr. Is cystic disease related to breast cancer? [review]. *Am J Surg Pathol*. 1991;15:687-94.
6. Mazoujian G, Bodian C, Haagensen DE Jr, Haagensen CD. Expression of GCDFP-15 in breast carcinomas. Relationship to pathologic and clinical factors. *Cancer* 1989;63:2156-61.
7. Wick MR, Lillemo T, Copland GT, Swanson PE, Manivel JC, Kiang DT. Gross cystic disease fluid protein-15 as a marker for breast cancer: immunohistochemical analysis of 690 human neoplasms and comparison with alpha-lactalbumin. *Hum Pathol* 1989;20:281-7.
8. Hall RE, Clements JA, Birrell SN, Tilley WD. Prostate-specific antigen and gross cystic disease fluid protein-15 are co-expressed in androgen receptor-positive breast tumours. *Br J Cancer* 1998;78:360-5.
9. Bhargava R, Dabbs DJ. Use of immunohistochemistry in diagnosis of breast epithelial lesions [review]. *Adv Anat Pathol*. 2007;14:93-107.

 Katalógové číslo	 Teplotné obmedzenie	 Lekársky nástroj na diagnostiku in vitro	 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	 Dako Denmark A/S Produktionsvej 42 DK-2600 Glostrup Denmark Tel +45 4485 9500 Fax +45 4485 9595 www.dako.com
 Výrobca	 Číslo šarže	 Obsah postačuje na <N> testov		
 Použiť do	 Pozri návod na použitie	 Úradne schválený splnomocnenec v rámci Európskeho spoločenstva		

PT0020/ Rev C

Vydanie 04/08