

**Polyclonal Rabbit
Anti-Human
c-erbB-2 Oncoprotein**

Code A0485

ENGLISH

Intended use	<p>For in vitro diagnostic use.</p> <p>Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erbB-2 Oncoprotein is intended for use in immunohistochemistry. The antibody labels normal epithelial cells, which generally express c-erbB-2 protein at a very low level. It is a useful tool for the identification of overexpression of c-erbB-2 oncoprotein in a variety of epithelial neoplasms, for example subsets of breast carcinomas, pulmonary adenocarcinomas, colorectal adenocarcinomas, pulmonary squamous and gastric adenocarcinomas (1), transitional cell carcinomas of the urinary bladder (2), and endometrial adenocarcinomas (3). The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.</p>
Synonym for antigen	<p>HER2 (<u>h</u>uman <u>e</u>pidermal <u>g</u>rowth factor <u>r</u>eceptor <u>2</u>) (4), HER2/neu (5), ErbB2 (4, 5) and p185^{HER2} (6).</p>
Summary and explanation	<p>c-erbB-2 oncoprotein is a 185 kDa transmembrane tyrosine kinase belonging to the epidermal growth factor receptor (EGFR) family. This family comprises four homologous receptors ErbB-1 (EGFR, HER1), ErbB-2 (HER2/neu), ErbB-3 (HER3), and ErbB-4 (HER4) (4). The c-erbB-2 proto-oncogene is located on chromosome 17 at q21 (7). Activation of c-erbB-2 oncoprotein, either by homo- or heterodimerization, triggers intracellular signalling events, which are crucial for cell growth, differentiation and survival. Mechanisms promoting receptor dimerizations include ligand binding and high receptor density (overexpression). An overexpression of c-erbB-2 oncoprotein is often a result of gene amplification (4).</p> <p>c-erbB-2 oncoprotein is frequently overexpressed in human carcinomas, thus 25-30% of human breast carcinomas overexpress this receptor (6, 8), whereas overexpression has not been found in benign breast disease (4).</p> <p>In the last two decades, monoclonal antibodies which block activation of c-erbB-2 oncoprotein have been developed and clinical activity of a humanized monoclonal antibody, Herceptin™, has been documented (6).</p>
Reagent provided	<p>Affinity-isolated rabbit antibody purified by using immobilized c-erbB-2 oncoprotein peptide and provided in liquid form in 0.05 mol/L Tris/HCl, 0.1 mol/L NaCl, 15 mmol/L NaN₃.</p> <p><u>Protein concentration g/L:</u> See label on vial.</p>
Immunogen	<p>Synthetic human c-erbB-2 oncoprotein peptide from the intracytoplasmic part of the c-erbB-2 oncoprotein. The peptide was coupled to keyhole limpet hemocyanin (KLH).</p>
Specificity	<p>The antibody labels an intracellular domain of c-erbB2 oncoprotein.</p>
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> 1. For professional users. 2. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing. 3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. 4. The product may be used in different techniques and in combination with different sample types and materials, therefore each individual laboratory should validate the test system applied. 5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. 6. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.
Storage	<p>Store at 2–8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the user must verify the conditions. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.</p>
Specimen preparation	<p><u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of tissues with 20 minutes of heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH, Code K8005 or Dako Target Retrieval Solution, Low pH, Code S1699/S1700. Alternatively, EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH, Code K8000/K8010, may be used at a different antibody dilution (see Staining Procedure). The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.</p>
Staining procedure	<p><u>Dilution:</u> Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erbB-2 Oncoprotein, Code A0485, may be used at a dilution range of 1:600–1:800 or 1:1000–1:1200 (see Visualization) when applied on pretreated, formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human mammary carcinoma overexpressing the c-erbB-2 oncoprotein using a 20 minutes incubation at room temperature.</p> <p><u>Visualization (HIER at low pH):</u> K8000/K8010: EnVision™ FLEX, High pH, Code K8000/K8010, replacing the High pH Target Retrieval Solution from this kit with EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH, Code K8005, using the antibody at a dilution range of 1:600–1:800, K5007*: Dako Real™ EnVision™ Detection Kit, Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse, Code K5007, using the antibody at a dilution range of 1:600–1:800.</p> <p><u>Visualization (HIER at high pH):</u> K8000/K8010: EnVision™ FLEX, High pH, Code K8000/K8010, using the antibody at a dilution range of 1:1000–1:1200. K5007*: Dako Real™ EnVision™ Detection Kit, Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse, Code K5007, using the antibody at a dilution range of 1:1000–1:1200.</p> <p>Follow the procedure enclosed with the selected visualization system(s).</p> <p><i>*K5007 is not available in the United States.</i></p> <p>Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined by each individual laboratory. The recommended negative control is Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), Code X0936, diluted to the same protein concentration as the primary antibody. Unless the stability in the actual test system has been established, it is recommended to dilute the product immediately before use or dilute in EnVision™ FLEX Antibody Diluent, Code K8006 or Dako Antibody Diluent, Code S0809.</p> <p><u>Automation:</u> The antibody is well-suited for immunohistochemical staining using automated platforms such as Autostainer Link 48 and Dako Autostainer Classic.</p>

Product-specific limitations	Occasional cytoplasmic staining may be observed. It should be disregarded and only staining of the cell membrane should be considered specific for c-erbB-2 oncoprotein.
Performance characteristics	Cells labelled specifically by the antibody display a staining confined to the cell membrane. <u>Normal tissues:</u> c-erbB-2 oncoprotein is a normal tissue component and the antibody may display a weak labelling of normal epithelial cells. Squamous epithelium in the esophagus and tonsil may in some cases show moderate staining. Prostatic gland tissue has also been found moderately positive. A long range of other normal tissues, such as adrenal gland, bone marrow, brain, heart, liver, lung, skeletal muscle, skin, spleen, thymus and thyroid gland, is negative. <u>Abnormal tissues:</u> In one study (1), 13/59 of breast carcinomas, 8/29 pulmonary adenocarcinomas, 10/58 colorectal adenocarcinomas, and 6/56 pulmonary squamous and 7/62 gastric adenocarcinomas showed c-erbB-2 oncoprotein overexpression (complete membrane staining – weak to strong – in more than 10% of the tumour cells) when tested with the antibody. In another study (2) 101/177 of transitional cell carcinomas of the urinary bladder showed c-erbB-2 oncoprotein overexpression. Of endometrial adenocarcinomas of endometrioid type 15/112 overexpressed c-erbB-2 oncoprotein (3). No overexpression was found in 30 kidney adenocarcinomas, 12 hepatocellular carcinomas, and 17 malignant melanomas (1).

FRANÇAIS

Utilisation prévue	Pour diagnostic <i>in vitro</i> . L'anticorps Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erb B-2 Oncoprotein est destiné pour un usage en immunohistochimie. L'anticorps marque les cellules épithéliales normales qui expriment la protéine c-erbB-2 à un niveau très faible. Il constitue un instrument pratique pour l'identification de la surexpression de l'oncoprotéine c-erbB-2 dans divers néoplasmes épithéliaux comme par exemple certains sous-groupes de carcinomes du sein, d'adénocarcinomes pulmonaires, d'adénocarcinomes colorectaux, d'adénocarcinomes pulmonaires squameux et d'adénocarcinomes gastriques (1), de carcinomes à cellules transitionnelles de la vessie (2) et d'adénocarcinomes endométriaux (3). L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.
Synonyme de l'antigène	HER2 (récepteur 2 du facteur de croissance épidermique humain) (4), HER2/neu (5), ErbB2 (4, 5) et p185 ^{HER2} (6).
Résumé et explication	L'oncoprotéine c-erbB-2 est une tyrosine kinase transmembranaire de 185 kDa qui fait partie de la famille du récepteur du facteur de croissance épidermique humain (EGFR). Cette famille comporte quatre récepteurs homologues ErbB-1 (EGFR, HER1), ErbB-2 (HER2/neu), ErbB-3 (HER3), et ErbB-4 (HER4) (4). Le proto-oncogène c-erbB-2 est situé sur le chromosome 17 en position q21 (7). L'activation de l'oncoprotéine c-erbB-2 soit par homodimérisation ou hétérodimérisation déclenche des signaux intracellulaires qui jouent un rôle crucial dans la croissance, la différenciation et la survie cellulaires. Les mécanismes responsables des dimérisations des récepteurs sont constitués d'une liaison à un ligand et d'une forte densité en récepteur (surexpression). Une surexpression de l'oncoprotéine c-erbB-2 est souvent le résultat de l'amplification d'un gène (4). L'oncoprotéine c-erbB-2 est fréquemment surexprimée dans les carcinomes humains, 25 à 30 % des carcinomes du sein humains surexpriment ce récepteur (6, 8) alors que cette surexpression n'est pas observée dans les affections bénignes du sein (4). Au cours des deux dernières décennies, des anticorps monoclonaux bloquant l'activation de l'oncoprotéine c-erbB-2 ont été développés et l'activité clinique d'un anticorps monoclonal humanisé, l'Herceptin™, a été documentée (6).
Réactifs fournis	Anticorps de lapin isolé par affinité, purifié au moyen d'un peptide de l'oncoprotéine c-erbB-2 immobilisé, et fourni à l'état liquide dans du Tris/HCl 0,05 mol/L, NaCl 0,1 mol/L, NaN ₃ 15 mmol/L. <u>Concentration en protéines en g/L:</u> Voir l'étiquette du flacon.
Immunogène	Peptide synthétique de l'oncoprotéine c-erbB-2 humaine de la partie intracytoplasmique de l'oncoprotéine c-erbB-2. Le peptide a été couplé à de l'hémocyanine de patelle (KLH).
Spécificité	L'anticorps marque un domaine intracellulaire de l'oncoprotéine c-erbB-2.
Précautions	1. Pour utilisateurs professionnels. 2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN ₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations pour former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations. 3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées. 4. Ce produit peut être utilisé dans des techniques variées et en combinaison avec des échantillons et matériaux variés, par conséquent, chaque laboratoire particulier doit valider le système d'analyse choisi. 5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau. 6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.
Stockage	Stocker entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption mentionnée sur le flacon. Dans le cas où les réactifs sont conservés sous d'autres conditions que celles spécifiées, les conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patients. En cas de résultats imprévus qui ne peuvent pas être expliqués par des changements de procédures de laboratoire et qu'un problème avec le produit est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.
Préparation de l'échantillon	<u>Coupes en paraffine:</u> L'anticorps peut être utilisé pour marquer les coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Le prétraitement des tissus par démasquage des épitopes par la chaleur pendant 20 minutes est requis. Des résultats optimaux sont obtenus avec la solution EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH, réf. K8005 ou Dako Target Retrieval Solution, Low pH, réf. S1699/S1700. Il est également possible d'utiliser la solution EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH, réf. K8000/K8010 à une dilution d'anticorps différente (voir le paragraphe Procédure d'immunomarquage). Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure d'immunomarquage immunohistochimique suivante.
Procédure d'immunomarquage	<u>Dilution:</u> L'anticorps Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erb B-2 Oncoprotein, réf. A0485, peut être utilisé à une gamme de dilution allant de 1/600 à 1/800 ou de 1/1000 à 1/1200 (voir le paragraphe Révélation) lorsqu'il est appliqué sur des coupes prétraitées, fixées au formol et incluses en paraffine de carcinomes mammaires humains surexprimant l'oncoprotéine c-erbB-2 en utilisant une incubation à température ambiante de 20 minutes. <u>Révélation (HIER à pH bas):</u> K8000/K8010 : Produit EnVision™ FLEX, High pH, réf. K8000/K8010, en remplaçant la solution High pH Target Retrieval Solution de ce kit par la solution EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH, réf. K8005, en utilisant l'anticorps à une gamme de dilution allant de 1/600 à 1/800. K5007* : Kit de détection Dako Real™ EnVision™ Detection Kit, Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse, réf. K5007, en utilisant l'anticorps à une gamme de dilution allant de 1/600 à 1/800. <u>Révélation (HIER à pH élevé):</u> K8000/K8010 : Produit EnVision™ FLEX, High pH, réf. K8000/K8010, en utilisant l'anticorps à une gamme de dilution allant de 1/1000 à 1/1200.

K5007* : Kit de détection Dako Real™ EnVision™ Detection Kit, Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse, réf. K5007, en utilisant l'anticorps à une gamme de dilution allant de 1/1000 à 1/1200.

Suivre la procédure incluse dans le(s) système(s) de révélation sélectionné(s).

*K5007 n'est pas disponible aux États-Unis.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Le réactif de contrôle négatif recommandé est le produit Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), réf. X0936, dilué à la même concentration en protéines que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité du système de test en cours ait été établie, il est recommandé de diluer le produit immédiatement avant utilisation ou de le diluer dans le diluant EnVision™ FLEX Antibody Diluent, réf. K8006 ou le diluant Dako Antibody Diluent, réf. S0809.

Procédure automatisée: L'anticorps est bien adapté à la coloration immunohistochimique sur les plates-formes automatisées, telles que l'Autostainer Link 48 et le Dako Autostainer Classic.

Limitations spécifiques au produit

Un marquage cytoplasmique peut parfois être observé. Il ne faut pas en tenir compte et seul le marquage de la membrane cellulaire doit être considéré comme étant spécifique de l'oncoprotéine c-erbB-2.

Performances

Les cellules marquées spécifiquement par l'anticorps présentent un marquage confiné à la membrane cellulaire.

Tissus normaux: L'oncoprotéine c-erbB-2 est un élément des tissus normaux et l'anticorps peut présenter un faible marquage des cellules épithéliales normales. L'épithélium squameux de l'œsophage et des amygdales peut, dans certains cas, présenter un marquage modéré. Les tissus prostatiques ont également présenté un marquage positif modéré. Nombreux sont les autres tissus normaux, surrénales, moelle osseuse, cerveau, cœur, foie, poumon, muscles squelettiques, peau, rate, thymus et thyroïde, qui sont négatifs.

Tissus anormaux: Au cours d'une étude (1), 13 carcinomes du sein sur 59, 8 adénocarcinomes pulmonaires sur 29, 10 adénocarcinomes colorectaux sur 58, et 6 adénocarcinomes pulmonaires squameux sur 56 et 7 adénocarcinomes gastriques sur 62 ont présenté une surexpression de l'oncoprotéine c-erbB-2 (marquage complet de la membrane, faible à fort, dans plus de 10 % des cellules tumorales) lorsqu'ils ont été testés avec l'anticorps. Au cours d'une autre étude (2), 101 carcinomes à cellules transitionnelles de la vessie sur 177 ont présenté une surexpression de l'oncoprotéine c-erbB-2. Parmi les adénocarcinomes endométriaux de type endométrioïde, 15 sur 112 ont présenté une surexpression de l'oncoprotéine c-erbB-2 (3). Aucune surexpression n'a été observée dans 30 adénocarcinomes du rein, 12 carcinomes hépatocellulaires et 17 mélanomes malins (1).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur Verwendung für *In-vitro*-Untersuchungen.

Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erbB-2 Onkoprotein ist für die immunhistochemische Anwendung bestimmt. Der Antikörper markiert normale Epithelzellen, die generell das c-erbB-2-Protein bei einer sehr geringen Konzentration exprimieren. Der Antikörper hat sich als nützlich erwiesen für die Identifikation der übermäßigen Expression des c-erbB-2-Onkoproteins bei unterschiedlichen epithelialen Neoplasmen, wie z. B. Untergruppen der Mammakarzinome, Lungenadenokarzinomen, kolorektalen Adenokarzinomen, squamösen Lungenadenokarzinomen und gastrischen Adenokarzinomen (1), vom Übergangsepithel ausgehenden Blasenkarzinomen (2) und Endometrium-Adenokarzinomen (3). Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden.

Synonyme Bezeichnungen des Antigens

HER2 (Rezeptor für humane Wachstumsfaktoren) (4), HER2/neu (5), ErbB2 (4, 5) und p185^{HER2} (6).

Zusammenfassung und Erklärung

Als eine transmembranische Tyrosinkinase mit 185 kDa gehört das c-erbB-2-Onkoprotein zu der EGF-Rezeptor-Familie (epidermal growth factor receptor, EGFR). Diese Familie umfasst vier homologe Rezeptoren: ErbB-1 (EGFR, HER1), ErbB-2 (HER2/neu), ErbB-3 (HER3) und ErbB-4 (HER4) (4). Das *c-erbB-2*-Proto-Onkogen ist bei q21 auf dem Chromosom 17 lokalisiert (7). Die Aktivierung des c-erbB-2-Onkoproteins – entweder durch Homo- oder Heterodimerisierung – löst intrazelluläre Signalisierungssequenzen aus, die für Wachstum, Differenzierung und Überleben der Zelle ausschlaggebend sind. Zu den die Rezeptor-Dimerisierungen fördernden Mechanismen gehören Ligandenbindung und hohe Rezeptordichte (Überexpression). Eine Überexpression des c-erbB-2-Onkoproteins ist häufig das Resultat der Genamplifikation (4).

Überexpression des c-erbB-2-Onkoproteins tritt häufig bei menschlichen Karzinomen auf, so dass folglich 25–30 % der Mammakarzinome des Menschen diesen Rezeptor übermäßig exprimieren (6, 8), wohingegen bei benignen Erkrankungen der Brust keine Überexpression nachgewiesen wurde (4).

In den vergangenen zwei Jahrzehnten wurden monoklonale Antikörper entwickelt, die eine Aktivierung des c-erbB-2-Onkoproteins blockieren und es wurde die klinische Aktivität eines humanisierten monoklonalen Antikörpers, Herceptin™, dokumentiert (6).

Geliefertes Reagenz

In flüssiger Form vorliegender, affinitätsisolierter Kaninchen-Antikörper. Reinigung anhand des immobilisierten c-erbB-2-Onkoprotein-Peptids. In 0,05 mol/l Tris/HCl; 0,1 mol/l NaCl; 15 mmol/l Na₂S₂O₃.

Proteinkonzentration g/L: Siehe Produktetikett.

Immunogen

Synthetisches humanes c-erbB-2-Onkoprotein-Peptid aus dem intrazytoplasmatischen Abschnitt des c-erbB-2-Onkoproteins. Die Kopplung des Peptids erfolgte an dem aus der Schlüssellockenapfschnecke gewonnenen Hemocyanin (keyhole limpet hemocyanin, KLH).

Spezifität

Der Antikörper markiert eine intrazelluläre Domäne des c-erbB2-Onkoproteins.

Hinweise und

Vorsichtsmaßnahmen

1. Für geschultes Fachpersonal.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natrium-Azid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metall-Azid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.
4. Das Produkt kann bei anderen Techniken und in Kombination mit unterschiedlichen Probenarten und Materialien eingesetzt werden. Folglich ist das spezifisch genutzte Testsystem vom jeweiligen Labor zu validieren.
5. Entsprechende Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und bundesstaatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2–8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Fläschchen angegebenen Verfallsdatum verwenden. Sollten die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt worden sein, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Wenn unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.

Probenvorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, formalinfixierten histologischen Schnitten genutzt werden. Eine 20-minütige Vorbehandlung der Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Ergebnisse können mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH, Code-Nr. K8005 oder Dako Target Retrieval Solution, Low pH, Code-Nr. S1699/S1700 erzielt werden. Alternativ kann EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH, Code-Nr. K8000/K8010 mit einer anderen

Antikörperverdünnung verwendet werden (siehe Färbeverfahren). Während der Gewebepreparierung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Färbeverfahren

Verdünnung: Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erbB-2 Oncoprotein, Code-Nr. A0485, kann bei einem Verdünnungsbereich von 1:600–1:800 oder 1:1000–1:1200 (siehe Visualisierung) eingesetzt werden, wenn es bei vorbehandelten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten des c-erbB-2-Onkoprotein überexprimierenden humanen Mammakarzinoms mit 20-minütiger Inkubation bei Zimmertemperatur angewendet wird.

Visualisierung (HIER bei niedrigem pH):

K8000/K8010: EnVision™ FLEX, High pH, Code-Nr. K8000/K8010, Ersetzen der High pH Target Retrieval Solution von diesem Kit mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, Low pH, Code-Nr. K8005, mit einem Verdünnungsbereich für den Antikörper von 1:600–1:800,

K5007*: Dako Real™ EnVision™ Detection Kit, Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse, Code-Nr. K5007, mit einem Verdünnungsbereich für den Antikörper von 1:600–1:800.

Visualisierung (HIER bei hohem pH):

K8000/K8010: EnVision™ FLEX, High pH, Code-Nr. K8000/K8010, mit einem Verdünnungsbereich für den Antikörper von 1:1000–1:1200.

K5007*: Dako Real™ EnVision™ Detection Kit, Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse, Code-Nr. K5007, mit einem Verdünnungsbereich für den Antikörper von 1:1000–1:1200.

Das dem gewählten Visualisierungssystem beiliegende Verfahren befolgen.

**K5007 ist in den USA nicht erhältlich.*

Optimale Bedingungen können je nach Probe und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Als Negativkontrolle wird Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), Code-Nr. X0936 empfohlen, das auf dieselbe Proteinkonzentration wie der Primäntikörper zu verdünnen ist. Falls die Stabilität im verwendeten Testsystem noch nicht ermittelt worden ist, wird empfohlen, das Produkt unmittelbar vor Verwendung bzw. mit EnVision™ FLEX Antibody Diluent, Code-Nr. K8006 oder Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809 zu verdünnen.

Automatisierung: Der Antikörper eignet sich sehr gut für immunhistochemische Färbungen mit automatisierten Systemen, z. B. mit Autostainer Link 48 und Dako Autostainer Classic.

Produktspezifische Beschränkungen

Gelegentlich kann zytoplasmatische Anfärbung beobachtet werden. Dies sollte ignoriert werden und nur die Anfärbung der Zellmembran sollte als für das c-erbB-2-Onkoprotein spezifisch eingeschätzt werden.

Leistungseigenschaften

Spezifisch durch den Antikörper markierte Zellen zeigen eine auf die Zellmembran beschränkte Färbung.









Normalgewebe: Das c-erbB-2-Onkoprotein ist ein normaler Gewebestandteil und der Antikörper kann eine schwache Markierung normaler Epithelzellen erbringen. Squamöses Speiseröhren- und Mandelgewebe kann in manchen Fällen mittelstarke Anfärbung aufweisen. Auch bei Prostatagewebe wurden mäßig positive Ergebnisse festgestellt. Eine Vielzahl anderer Normalgewebe wie Nebenniere, Knochenmark, Gehirn, Herz, Leber, Lunge, Skelettmuskel, Haut, Milz, Thymus und Schilddrüse sind negativ.

Anomales Gewebe: Bei der Untersuchung mit dem Antikörper zeigten in einer Studie (1) 13/59 der Mammakarzinome, 8/29 der Lungenadenokarzinome, 10/58 der kolorektalen Adenokarzinome, 6/56 der squamösen Lungenadenokarzinome und 7/62 der gastrischen Adenokarzinome eine Überexpression des c-erbB-2-Onkoproteins (komplette Membrananfärbung – schwach bis stark – bei mehr als 10 % der Tumorzellen). In einer weiteren Studie (2) erbrachten 101/177 der vom Übergangsepithel ausgehenden Blasenkarzinome Überexpression des c-erbB-2-Onkoproteins. Von den Endometrium-Adenokarzinomen des endometrioiden Typus zeigten 15/112 eine Überexpression des c-erbB-2-Onkoproteins (3). Bei 30 Nierenadenokarzinomen, 12 hepatozellulären Karzinomen und 17 malignen Melanomen wurde keine Überexpression nachgewiesen (1).

References/ Références/ Literatur

- Koepfen HKW, Wright BD, Burt AD, Quirke P, McNicol AM, Dybdal NO, et al. Overexpression of HER2/neu in solid tumours: an immunohistochemical survey. *Histopathology* 2001;38:96-104.
- Moch H, Sauter G, Moore D, Mihatsch MJ, Gudat F, Waldman F. p53 and erbB-2 protein overexpression are associated with early invasion and metastasis in bladder cancer. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1993; 423:329-34.
- Nielsen AL, Nyholm HCJ. p53 protein and c-erbB-2 protein (p185) expression in endometrial adenocarcinoma of endometrioid type. *Am J Clin Pathol* 1994;102:76-9.
- Klapper LN, Kirschbaum MH, Sela M, Yarden Y. Biochemical and clinical implications of the ErbB/HER signaling network of growth factor receptors. [review]. *Adv Cancer Res* 2000;77:25-79.
- Mendelsohn J, Baselga J. The EGF receptor family as targets for cancer therapy. *Oncogene* 2000;19:6550-65.
- Baselga J, Norton L, Albanell J, Kim Y-M, Mendelsohn J. Recombinant humanized anti-HER2 antibody (Herceptin™) enhances the antitumor activity of paclitaxel and doxorubicin against HER2/neu overexpressing human breast cancer xenografts. *Cancer Res* 1998;58:2825-31.
- Fukushige S-I, Matsubara K-I, Yoshida M, Sasaki M, Suzuki T, Semba K, et al. Localization of a novel v-erbB-related gene, c-erbB-2, on human chromosome 17 and its amplification in a gastric cancer cell line. *Mol Cell Biol* 1986;6:955-8.
- Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, et al. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast and ovarian cancer. *Science* 1989;244:707-12.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2 °C – 8 °C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Use by Utiliser avant Verwendbar bis
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft		



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com