

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Cytokeratin 7
 Clone OV-TL 12/30
Ready-to-Use
 (Dako Omnis)

Code GA619

ENGLISH

Intended use For in vitro diagnostic use.
 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 7, Clone OV-TL 12/30, Ready-to-Use (Dako Omnis), is intended for use in immunohistochemistry (IHC) together with the Dako Omnis instrument. This antibody labels glandular and transitional epithelial cells and is a useful aid for the classification of adenocarcinoma of the lung (1), breast and endometrium, thyroid gland (2) and ovary (3), as well as chromophobe renal cell carcinoma (4). Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. 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. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.

Summary and explanation Cytokeratin 7 belongs to the intermediate filaments, which create a cytoskeleton in almost all eukaryotic cells. In contrast to other intermediate filaments, cytokeratins (CKs) are made up of a highly complex multigene family of polypeptides with molecular masses ranging from 40 to 68 kDa. CKs are generally held to belong to the most fundamental markers of epithelial differentiation, and 20 distinct CK polypeptides have been revealed in various human epithelia (5, 6). The CKs can be divided into an acidic type A (class I) and a neutral-basic type B (class II) subfamily. CK7, a 54 kDa protein, belongs to the neutral-basic type B subfamily, and its distribution is confined to glandular and transitional epithelia (5).
 Refer to *Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure; Materials Required, Not Supplied; Storage; Specimen Preparation; Staining Procedure; Quality Control; Troubleshooting; Interpretation of Staining; General Limitations.

Reagent provided Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.
 Clone: OV-TL 12/30. Isotype: IgG1, kappa.

Immunogen OTN 11, ovarian carcinoma cell line (1, 8).

Specificity SDS-PAGE analysis of immunoprecipitates formed between Triton X-100-extracted cytoskeleton preparations of several cell cultures and tissues and the antibody a 54 kDa band is labeled corresponding to cytokeratin 7 (1).

- Precautions**
- For in vitro diagnostic use.
 - For professional users.
 - 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.
 - As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
 - Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
 - Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage Store at 2-8 °C. During storage the cap should be closed. Do not use after expiration date stamped on vial. Onboard stability is 280 hours. Onboard time is tracked by the Dako Omnis software. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. 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.

Staining protocol overview*

Step		Comments
Fixation/embedding	Formalin-fixed, paraffin-embedded	Onboard deparaffinization
Pre-treatment	EnVision FLEX, High pH (Code GV804)	30 min HIER
Antibody	Ready-to-use	12.5 min incubation
Negative Control	FLEX Negative Control, Mouse (Code GA750)	12.5 min incubation
Visualization	EnVision FLEX (Code GV800)	Block: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Counterstain	Hematoxylin (Code GC808)	3 min incubation
Control Tissue	Pancreas	Cytoplasmic staining
Slides	FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020)	Recommended for greater adherence of tissue sections to glass slides
Mounting	Non-aqueous, permanent mounting required	After staining, the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method
Instrumentation	Dako Omnis	Reagents are provided in instrument-specific vials

*The user must always read the package insert for detailed instructions of the staining procedure and handling of the product.

Specimen preparation Paraffin sections: The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of 4 µm.

Pre-treatment: Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required. Pretreating tissues with HIER using diluted EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), Code GV804, is recommended. Deparaffinization, rehydration and target retrieval are performed onboard Dako Omnis. Please refer to Dako Omnis Basic User Guide.

Dako Omnis ensures that the tissue sections do not dry out during the pre-treatment process or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides, Code K8020 is recommended.

Staining procedure Program: The staining steps and incubation times are pre-programmed into the Dako Omnis software. Please refer to the Dako Omnis Basic User Guide for detailed instructions on loading slides and reagents. If the protocols are not available in the Dako Omnis system, please contact Dako Technical Support. All incubation steps are performed at 32 °C onboard Dako Omnis.

Visualization: The recommended visualization system is EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), Code GV800. The visualization is performed onboard Dako Omnis.

Counterstaining: The recommended counterstain is Hematoxylin (Dako Omnis), Code GC808. The counterstaining is performed onboard Dako Omnis.

Mounting: After staining onboard Dako Omnis, the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method.

Quality control: Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include pancreas and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in the "Performance characteristics" section. The recommended negative control reagent is FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), Code GA750.

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display cytoplasmic staining.

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody consistently labels a large number of simple-, complex- and transitional epithelia, including biliary and pancreatic ducts, lung alveoli, endometrium, distal convoluted tubules and collecting ducts of the kidney (simple epithelia), bronchial and bronchiolar epithelium, ducts of prostate, luminal cells of fallopian tube and endocervix, bronchial-, breast-, salivary-, sweat- and endocervical glands, placental trophoblasts (complex epithelia), and all cell layers of urothelium (transitional epithelium) (2). Additionally, the antibody labels ovarian mesothelium (3), and labeling has also been observed in luminal- and basal cells of the prostate and myoepithelial cells (2). In pancreas, the epithelial cells of the large acinar ducts show a moderate to strong staining reaction, whereas the epithelial cells of intercalating pancreatic ducts show a weak to moderate staining reaction.

Abnormal tissues: In the human ovary, 12/12 cystoma simplex, 12/12 cystadenomas and 60/60 carcinomas were labeled by the antibody (3). Furthermore, 6/6 endometrial-, 4/4 endocervical-, 3/3 breast-, and 3/3 thyroid carcinomas were labeled (2). In the human lung, 20/20 adenocarcinomas of different grades, including 4 bronchioalveolar carcinomas, were labeled by the antibody, whereas 24/24 cases of squamous cell carcinomas were unlabeled, as were 6/6 cases of large cell anaplastic carcinomas (1) and 10/10 cases of mesotheliomas (9). In the human gastrointestinal tract, 5/6 differently graded adenocarcinomas and 3/3 poorly differentiated signet ring cell carcinomas of the stomach, and 1/1 carcinoma of the pancreas were labeled by the antibody, whereas anaplastic stomach-, small intestine-, and rectal carcinomas as well as colon adenocarcinomas of different grades were unlabeled (2). 6/6 chromophobe renal cell carcinomas were positive, whereas 8/11 oncocytomas were unlabeled with the antibody (4).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 7, Clone OV-TL 12/30, Ready-to-Use (Dako Omnis) est destiné à une utilisation en immunohistochimie (IHC) avec l'instrument Dako Omnis. Cet anticorps marque les cellules épithéliales glandulaires et transitionnelles et facilite la classification de l'adénocarcinome du poumon (1), du sein et de l'endomètre, de la glande thyroïde (2) et de l'ovaire (3), ainsi que le carcinome rénal à cellules chromophobes (4). La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. 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. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histochimiques non immunologiques.

Résumé et explication

La cytokératine 7 fait partie des filaments intermédiaires, qui créent un cytosquelette dans presque toutes les cellules eucaryotes. À la différence des autres filaments intermédiaires, les cytokératines (CK) sont constituées d'une famille multigénique hautement complexe de polypeptides dont les poids moléculaires varient entre 40 et 68 kDa. Les CK sont généralement perçues comme faisant partie des marqueurs les plus fondamentaux de la différenciation épithéliale et 20 polypeptides distincts de CK ont été mis en évidence dans différents épithéliums humains (5, 6). Les CK peuvent être divisées en sous-familles : type A acide (classe I) et type B neutre-basique (classe II). La CK7, une protéine de 54 kDa, appartient à la sous-famille de type B neutre-basique et sa répartition se limite aux épithéliums glandulaire et transitionnel (5).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du kit de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.

Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Clone : OV-TL 12/30. **Isotype :** IgG1, kappa.

Immunogène

OTN 11, lignée cellulaire de carcinome ovarien (1, 8).

Spécificité

L'analyse par SDS-PAGE d'immunoprécipités formés entre des préparations cytosquelettiques de plusieurs tissus et cultures cellulaires extraits par Triton X-100 et l'anticorps, une bande de 54 kDa est marquée, qui correspond à la cytokératine 7 (1).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), 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 et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
4. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
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, nationales et européennes.

Conservation

Conservé entre 2 et 8 °C. Pendant la conservation, le bouchon doit être fermé. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. La stabilité sur l'appareil est de 280 heures. La stabilité sur l'appareil est suivie par le logiciel Dako Omnis. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées 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 patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.

Vue d'ensemble du protocole de coloration*

Étape		Commentaires
Fixation/inclusion	Fixation au formol, inclusion en paraffine	Déparaffinage intégré
Prétraitement	EnVision FLEX, High pH (réf. GV804)	HIER de 30 minutes
Anticorps	Prêt à l'emploi	Incubation de 12,5 minutes
Contrôle négatif	FLEX Negative Control, Mouse (réf. GA750)	Incubation de 12,5 minutes
Visualisation	EnVision FLEX (réf. GV800)	Bloc : 3 min ; Polymère : 20 min ; Chromogène : 5 min
Contre-coloration	Hematoxylin (réf. GC808)	Incubation de 3 minutes
Tissu de contrôle	Pancréas	Coloration cytoplasmique
Lames	FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020)	Recommandées pour une meilleure adhérence des coupes de tissus aux lames de verre
Montage	Milieu de montage permanent non aqueux requis	Une fois la procédure de coloration terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées selon une méthode de montage permanent
Appareillage	Dako Omnis	Les réactifs sont fournis dans des flacons propres à l'appareil

*L'utilisateur doit toujours lire la notice pour obtenir des instructions détaillées sur la procédure de coloration et sur la manipulation du produit.

Préparation des échantillons

Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons tissulaires doit être de 4 µm.

Prétraitement : Le prétraitement des coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine par restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER) est nécessaire. Il est recommandé de prétraiter les tissus par la méthode HIER à l'aide de la solution diluée EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), réf. GV804. Le déparaffinage, la réhydratation et la restauration des cibles sont effectués sur l'appareil Dako Omnis. Se reporter au Guide d'utilisation de base du Dako Omnis.

Le Dako Omnis s'assure que les coupes de tissus ne sèchent pas lors du prétraitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissu sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser les lames FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020).

Procédure de coloration

Programme : Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel Dako Omnis. Se reporter au Guide d'utilisation de base du Dako Omnis pour plus de détails sur le chargement des lames et des réactifs. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur le système Dako Omnis, contacter l'assistance technique Dako. Toutes les étapes d'incubation sont effectuées à 32 °C sur l'appareil Dako Omnis.

Visualisation : Le système de visualisation recommandé est le système EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), réf. GV800. La visualisation est effectuée sur l'appareil Dako Omnis.

Contre-coloration : Le contre-colorant recommandé est le produit Hematoxylin (Dako Omnis), réf. GC808. La contre-coloration est effectuée sur l'appareil Dako Omnis.

Montage : Après la coloration sur l'appareil Dako Omnis, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées à l'aide d'une méthode de montage permanent.

Contrôle de qualité : Les tissus de contrôle positifs et négatifs, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients. Le tissu de contrôle positif doit comprendre le pancréas et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que ceux décrits pour ce tissu à la section "Performances". Le réactif de contrôle négatif recommandé est le FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), réf. GA750.

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration cytoplasmique.

Performances

Tissus normaux : L'anticorps marque de manière homogène un grand nombre d'épithéliums simples, complexes et transitionnels, notamment les canaux biliaires et pancréatiques, les alvéoles pulmonaires, l'endomètre, les tubules contournés distaux et les tubes collecteurs du rein (épithéliums simples), l'épithélium bronchique et bronchiolaire, les canaux prostatiques, les cellules luminales des trompes de Fallope et de l'endocol, les glandes bronchiques, mammaires, salivaires, sudoripares et endocervicales, les trophoblastes placentaires (épithéliums complexes), ainsi que toutes les couches de l'urothélium (épithélium transitionnel) (2). En outre, l'anticorps marque le mésothélium ovarien (3) et une coloration a également été observée dans les cellules luminales et basales de la prostate et les cellules myoépithéliales (2). Dans le pancréas, les cellules épithéliales au niveau des acini présentent une réaction modérée à forte, alors que les cellules épithéliales des canaux pancréatiques intercalaires présentent une réaction faible à modérée.

Tissus anormaux : Dans l'ovaire humain : 12 kystomes simples sur 12, 12 cystadénomes sur 12 et 60 carcinomes sur 60 étaient marqués par l'anticorps (3). En outre, 6 carcinomes endométriaux sur 6, 4 carcinomes endocervicaux sur 4, 3 carcinomes du sein sur 3 et 3 carcinomes de la thyroïde sur 3 étaient marqués (2). Dans le poumon humain : 20 adénocarcinomes de différents grades sur 20, dont 4 carcinomes broncho-alvéolaires, étaient marqués à l'anticorps, alors que 24 cas de carcinomes à cellules squameuses sur 24 n'étaient pas marqués, de même que 6 cas de carcinomes anaplasiques à grandes cellules sur 6 (1) et 10 cas de mésothéliomes sur 10 (9). Dans le tractus gastro-intestinal humain : 5 adénocarcinomes de grades différents sur 6, 3 carcinomes faiblement différenciés à cellules en bague de l'estomac sur 3 et 1 carcinome du pancréas sur 1 étaient marqués par l'anticorps, alors que les carcinomes anaplasiques de l'estomac, de l'intestin grêle et du rectum, ainsi que des adénocarcinomes du côlon de grades différents n'étaient pas marqués (2). 6 carcinomes rénaux à cellules chromophobes sur 6 étaient positifs, alors que 8 oncocytomes sur 11 n'étaient pas marqués par l'anticorps (4).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 7, Clone OV-TL 12 von 30, Ready-to-Use (Dako Omnis) ist für die Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) in Verbindung mit dem Dako Omnis Gerät bestimmt. Dieser Antikörper markiert Drüsen- und Übergangsepithelzellen und unterstützt die Klassifizierung von Adenokarzinomen von Lunge (1), Brust und Endometrium, Schilddrüse (2) und Eierstöcken (3) sowie von chromophoben Nierenzellkarzinomen (4). Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer Eintrendenden oder ausbleibenden 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. Dieser Antikörper kommt nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen zum Einsatz.

Zusammenfassung und Erklärung

Cytokeratin 7 gehört zu den Intermediärfilamenten, die in fast allen eukaryotischen Zellen ein Zytoskelett bilden. Im Gegensatz zu anderen Intermediärfilamentproteinen bilden Zytokeratine (ZK) eine hochkomplexe, von einer Multigenfamilie codierte Familie von Polypeptiden, deren Molekulargewicht von 40 bis 68 kDa reicht. ZK werden zu den wichtigsten Markern für epitheliale Differenzierung gezählt. In verschiedenen menschlichen Epithelen wurden 20 unterschiedliche ZK-Polypeptide entdeckt (5, 6). Die ZK lassen sich in einen sauren Typ A (Klasse I) und einen neutral-basischen Typ B (Klasse II) unterteilen. Das 54-kDa-Protein CK7 gehört zur neutral-basischen Unterfamilie Typ B, und seine Verteilung ist auf Drüsen- und Übergangsepithelien begrenzt (5).

Folgende Angaben bitte den *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien, Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, Lagerung, Gewebepreparation, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0.015 mol/L Natriumazid enthält.

Klon: OV-TL 12/30. **Isotyp:** IgG1, Kappa.

Immunogen

OTN 11, Eierstockkarzinom-Zelllinie (1, 8).

Spezifität

Bei der SDS-PAGE-Analyse der zwischen den Triton X-100-extrahierten Zytoskelett-Präparaten mehrerer Zellkulturen und Geweben und dem Antikörper gebildeten Immunpräzipitaten wurde eine Cytokeratin 7 entsprechende Bande von 54 kDa markiert (1).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2-8 °C lagern. Während der Lagerung ist der Deckel geschlossen zu halten. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Die Stabilität im Gerät beträgt 280 Stunden. Die Zeitdauer im Gerät wird durch die Dako Omnis Software erfasst. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine 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 Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.

Übersicht über die Färbeprotokolle*

Schritt		Anmerkungen
Fixierung/Einbettung	Fixiert in Formalin, eingebettet in Paraffin	Entparaffinierung im Gerät
Vorbehandlung	EnVision FLEX, High pH (Code-Nr. GV804)	30 min HIER
Antikörper	Gebrauchsfertig	12,5 min Inkubation
Negativkontrolle	FLEX Negative Control, Mouse (Code-Nr. GA750)	12,5 min Inkubation
Detektionssystem	EnVision FLEX (Code-Nr. GV800)	Block: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Gegenfärbung	Hematoxylin (Code-Nr. GC808)	3 min Inkubation
Kontrollgewebe	Pankreas	Zytoplasmatische Färbungen
Objektträger	FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020)	Empfohlen zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern

Eindeckung	Nichtwässriges, permanentes Eindeckmedium erforderlich	Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Eindeckmediums auf den Objektträger aufgebracht werden
Geräte	Dako Omnis	Reagenzien werden in gerätespezifischen Fläschchen geliefert

* Der Anwender muss stets die Packungsbeilage lesen, um sich über die detaillierten Anweisungen für das Färbeverfahren und die Handhabung des Produkts zu informieren.

Gewebevorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Vorbehandlung: Es ist eine Vorbehandlung der formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitte durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) erforderlich. Die HIER-Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), Code-Nr. GV804, wird empfohlen. Entparaffinierung, Rehydrierung und Demaskierung werden im Dako Omnis Gerät selbst durchgeführt. Weitere Informationen finden Sie im Dako Omnis Benutzerhandbuch.

Dako Omnis gewährleistet, dass die Gewebeschnitte während der Vorbehandlungsprozedur und während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern werden FLEX IHC Microscope Slides, Code-Nr. K8020, empfohlen.

Färbeverfahren

Programm: Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Dako Omnis Software vorprogrammiert. Detaillierte Anweisungen zum Laden der Objektträger und Reagenzien sind dem Dako Omnis Benutzerhandbuch zu entnehmen. Wenn die Protokolle im Dako Omnis System nicht verfügbar sind, wenden Sie sich an den technischen Kundendienst von Dako. Alle Inkubationsschritte sind bei 32 °C im Dako Omnis Gerät durchzuführen.

Detektionssystem: Das empfohlene Detektionssystem ist EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), Code-Nr. GV800. Die Detektion wird im Dako Omnis Gerät durchgeführt.

Gegenfärbung: Die empfohlene Gegenfärbung ist Hematoxylin (Dako Omnis), Code-Nr. GC808. Die Gegenfärbung wird im Dako Omnis Gerät durchgeführt.

Eindecken: Nach dem Färben im Dako Omnis-Gerät müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit einer permanenten Eindeckmethode auf den Objektträger aufgebracht werden.

Qualitätskontrolle: Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativ-Kontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden. Das Positivkontrollgewebe sollte Pankreas enthalten, und die Zellen/Strukturen sollten die für dieses Gewebe im Abschnitt „Leistungseigenschaften“ beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativkontrollreagenz ist FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), Code-Nr. GA750.

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen ein zytoplasmatisches Färbemuster auf.

Leistungseigenschaften








Normale Gewebe: Der Antikörper markiert konsistent eine große Anzahl einfacher, komplexer und Übergangsepithelien, u. a.: Gallen- und Pankreasgänge, Alveolen der Lunge, Endometrium, distale geknäulte Anteile (Partes convolutae) der Tubuli und Sammelgänge der Niere (einfache Epithelien), bronchiales und bronchiolares Epithel, Prostatagänge, luminale Zellen von Salpinx und Endozervix, Drüsen der Bronchien und Brust, Speichel- und Schweißdrüsen, endozervikale Drüsen, Trophoblasten der Plazenta (komplexe Epithelien) und sämtliche Zellschichten des Urothels (Übergangsepithel) (2). Zudem markiert der Antikörper das Eierstock-Mesothel (3). Ebenso wurde eine Markierung bei Luminal- und Basalzellen der Prostata und bei Myoepithelzellen beobachtet (2). Im Pankreas zeigen die Epithelzellen der großen Azinusgänge eine mäßige bis starke Färbereaktion, die Epithelzellen der interkalierenden Pankreasgänge dagegen eine schwache bis mäßige Färbereaktion.

Anormale Gewebe: Im menschlichen Eierstock markierte der Antikörper 12 von 12 Cystoma simplex, 12 von 12 Cystadenomen und 60 von 60 Karzinomen (3). Zudem wurden 6 von 6 Endometrium-, 4 von 4 Endozervikal-, 3 von 3 Brust- und 3 von 3 Schilddrüsenkarzinomen markiert (2). Bei der menschlichen Lunge wurden 20 von 20 Adenokarzinomen unterschiedlicher Malignität, einschließlich 4 bronchioalveolarer Karzinome, durch den Antikörper markiert. Dagegen wurden 24 von 24 Fällen von Plattenepithelkarzinomen nicht markiert, ebenso wie 6 von 6 Fällen großzelliger anaplastischer Karzinome (1) und 10 von 10 Fällen von Mesotheliomen (9). Beim menschlichen Gastrointestinaltrakt wurden 5 von 6 Adenokarzinomen unterschiedlicher Malignität und 3 von 3 schlecht differenzierten Siegelringzellkarzinomen des Magens und 1 von 1 Pankreaskarzinom durch den Antikörper markiert. Dagegen wurden anaplastische Adenokarzinome des Magens, Dünndarms und Rektums sowie Adenokarzinome des Dickdarms mit unterschiedlicher Malignität nicht markiert (2). 6 von 6 chromophoben Nierenzellenkarzinomen wurden markiert, während 8 von 11 Onkozytomen nicht durch den Antikörper markiert wurden (4).

References/ Références/ Literatur

- van de Molengraft FJMM, van Niekerk CC, Jap PHK, Poels LG. OV-TL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. *Histopathology* 1993;22:35-8.
- van Niekerk CC, Jap PHK, Ramaekers FCS, van de Molengraft F, Poels LG. Immunohistochemical demonstration of keratin 7 in routinely fixed paraffin-embedded human tissues. *J Pathol* 1991;165:145-52.
- van Niekerk CC, Boerman OC, Ramaekers FCS, Poels LG. Marker profile of different phases in the transition of normal human ovarian epithelium to ovarian carcinomas. *Am J Pathol* 1991;138:455-63.
- Leroy X, Moukassa D, Copin MC, Saint F, Mazeman E, Gosselin B. Utility of cytokeratin 7 for distinguishing chromophobe renal cell carcinoma from renal oncocytoma. *Eur Urol* 2000;37:484-7.
- Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell* 1982;31:11-24.
- Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors. In: Hermann, Harris, editors. *Subcellular biochemistry*. Volume 31, New York: Plenum Press; 1998. p. 205-62.
- Ramaekers F, van Niekerk C, Poels L, Schaafsma E, Huijsmans A, Robben H, et al. Use of monoclonal antibodies to keratin 7 in the differential diagnosis of adenocarcinomas. *Am J Pathol* 1990;136:641-55.
- Poels LG, Jap PHK, Ramaekers FCS, Scheres JMJC, Thomas CMG, Vooijs PG, et al. Characterization of a hormone-producing ovarian carcinoma cell line. *Gynecol Oncol* 1989;32:203-14.
- Baars JH, de Ruijter JLM, Smedts F, van Niekerk CC, Poels LG, Seldenrijk CA, et al. The applicability of a keratin 7 monoclonal antibody in routinely Papanicolaou-stained cytologic specimens for the differential diagnosis of carcinomas. *Am J Clin Pathol* 1994;101:257-61.

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

	Catalogue number Référence catalogue Bestellnummer		Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller
	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum		Batch code Code du lot Chargenbezeichnung		
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Use by Utiliser avant Verwendbar bis		

Revision 2018.11