

**Monoclonal Mouse
Anti-Human PTEN
Clone 6H2.1**

| | |
|---|--|
| English | Code M3627 |
| Intended use | For In Vitro diagnostic use. This antibody is intended for laboratory use to identify qualitatively by light microscopy PTEN expressing cells in normal and neoplastic tissues using immunohistochemical (IHC) test methods. Differential identification is aided by the results from a panel of antibodies. Interpretation must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist. |
| Synonym | MMAC (mutated in multiple advanced cancers), TEP1(TGF- β -regulated and epithelial cell-enriched phosphatase) |
| Summary and explanation | <p>PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten) is a tumor suppressor gene that is mutated in a wide range of cancers.¹⁻⁴ PTEN is located on chromosome sub-band 10q23.3 and encodes a 403 amino acid protein which acts as a dual-specific protein and phospholipid phosphatase.^{2,3,5,6} As a lipid phosphatase, PTEN regulates phosphatidylinositol-3'-kinase by dephosphorylating the D3 position of phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate and phosphatidylinositol (3,4)-bisphosphate substrates, thereby antagonizing signal transduction downstream of phosphatidylinositol-(PI-3) kinase.⁷ Loss-of-function mutations in the PTEN gene lead to constitutive activation of multiple signaling pathways including the PI3K/Akt pathway which affects cell proliferation, apoptosis and migration.^{8,9} PTEN has also been shown to control p53 protein levels and transcriptional activity.¹⁰</p> <p>Refer to Dako's <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.</p> |
| Reagent provided | Code M3627 Anti-PTEN is provided in liquid form as tissue culture supernatant (containing fetal bovine serum) dialyzed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and 0.015 mol/L sodium azide. Contains stabilizing protein. Clone: 6H2.1 ¹¹ Isotype: IgG _{2a} , kappa Mouse IgG concentration mg/L: See label on vial. M3627 may be used at a dilution of 1:100 when performing IHC using the EnVision™+ detection system. These are guidelines only. Optimal antibody concentrations may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined individually in each laboratory. |
| Immunogen | Full-length recombinant human PTEN protein |
| Specificity | Monoclonal mouse anti-PTEN clone 6H2.1, identifies a single band at the 55 kD predicted molecular weight for PTEN in Western blots of MCF-7, T-47D and MDA-MB-435S PTEN homozygous cell lines. PTEN null cell lines BT-549 and MDA-MB-468 cell lines were unreactive with clone 6H2.1 by Western blot analysis. Immunoblots of MCF-7 cells induced to express PTEN demonstrated an increased band intensity at the expected size while a weak band was observed on immunoblots of ZR-75-1 cell lysates containing a hemizygous deletion of PTEN and a mis-sense mutation in the remaining allele. ¹¹ Immunohistochemical staining of paraffin-embedded cell blocks of Ishikawa 3-H-12 cells transfected with PTEN stained positively whereas PTEN deficient 3-H-12 cell block sections were unreactive. ¹² |
| Materials required, but not supplied | Refer to Dako's <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> and/or the detection system instructions. Suggested diluent for IHC procedures: Antibody Diluent with Background Reducing Components (code S3022) The following negative control is recommended for IHC procedures: Mouse IgG _{2a} (code X0943) |
| 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, NaN₃ 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. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.5. Unused reagents should be disposed of according to local, State, and Federal regulations. |

Storage

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 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.

Specimen preparation*Paraffin Sections*

Anti-PTEN can be used on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Pretreatment of tissue with proteolytic enzymes is not recommended.

The deparaffinized tissue sections must be treated with heat prior to the IHC staining procedure. Heat-induced epitope retrieval (HIER) involves immersion of tissue sections in a pre-heated buffer solution and maintaining heat in a water bath (95–99°C). Alternative heat sources may be used for HIER upon validation against the recommended procedure. Use a 40-minute heating protocol for HIER performed at 95–99°C; after thermal treatment, allow the jar with buffer and slides to cool for 20 minutes at room temperature. Rinse well with buffer or deionized water following HIER. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Silanized Slides (code S3003) is recommended. Target Retrieval Solution pH 9.0 (code S2368) or 10x Concentrate (code S2367) is recommended.

Cryostat Sections And Cell Smears

Anti-PTEN can be used for labeling acetone-fixed cryostat sections or fixed cell smears.

Staining procedure

Follow the procedure for the detection system selected.

Staining interpretation

The cellular staining pattern for anti-PTEN is cytoplasmic and/or nuclear.

Performance characteristics

*Normal Tissues*¹³

| Tissue Type (# tested) | Positively Staining Tissue Elements |
|-------------------------------|--|
| Adrenal (3) | 2/3 zona glomerulosa; 2/3 vascular endothelium |
| Bone Marrow (3) | 1/3 macrophages |
| Breast (3) | 2/3 ductal epithelial cells; 1/3 lobular epithelial cells; 1/3 vascular endothelium |
| Brain/Cerebellum (3) | 3/3 molecular and granular layer, neuropil |
| Brain/Cerebrum (3) | 3/3 neurons, astrocytes; 2/3 neuropil |
| Cervix (3) | 3/3 squamous mucosa; 1/3 vascular smooth muscle, vascular endothelium |
| Colon (2) | 1/2 glandular epithelium, ganglion cells, macrophages; 1/2 germinal center cells; 2/2 nerve, vascular endothelium |
| Esophagus (3) | 1/3 squamous mucosa; 2/3 nerve; 1/3 vascular endothelium |
| Heart (3) | 3/3 vascular endothelium; 1/3 vascular smooth muscle; 1/3 nerve |
| Kidney (3) | 2/3 glomeruli, tubule epithelium, endothelial cells; 1/3 mesangial cells, vessels; 1/3 lining cells, interstitial cells |
| Liver (3) | 3/3 hepatocytes; 1/3 bile ducts |
| Lung (3) | 2/3 bronchial epithelium; 3/3 vascular endothelium; 1/3 vascular smooth muscle, macrophages |
| Mesothelial Cells (3) | 3/3 vascular endothelial cells |
| Nerve, Peripheral (2) | 2/2 nerve cells |
| Ovary (3) | 3/3 stroma; 1/3 surface epithelium |
| Pancreas (3) | 2/3 ductal epithelium, nerve; 1/3 acinar epithelium; 3/3 islets of Langerhans.; 2/3 vascular endothelium |
| Parathyroid (3) | 2/3 chief cells |
| Pituitary (3) | 3/3 pituicytes, neuropil; 2/3 vascular endothelium; 1/3 nerve, vascular smooth muscle |
| Prostate (3) | 3/3 glandular epithelium, fibromuscular stroma; 1/3 vascular endothelium |
| Salivary gland (3) | 1/3 acini and duct epithelium; 2/3 nerve |
| Skeletal muscle (3) | 3/3 vascular endothelium; 1/3 vascular smooth muscle |
| Skin (3) | 3/3 epidermis, hair follicles, sebaceous glands; 1/3 apocrine glands |
| Small intestine (3) | 1/3 glandular epithelium, smooth muscle, macrophages, germinal center cells; 1/3 surface epithelium; 3/3 nerve; 3/3 vascular endothelium |
| Spleen (3) | 1/3 macrophages (rare); 1/3 littoral cells |
| Stomach (3) | 3/3 glandular epithelium; 2/3 vascular endothelium; 1/3 vascular smooth muscle, macrophages; 1/3 nerve; 1/3 germinal center cells |
| Testis (3) | 3/3 seminiferous tubules; 1/3 Leydig cells, vascular endothelium |
| Thymus (3) | 3/3 thymic epithelium |
| Thyroid (2) | 2/2 negative |
| Tonsil (3) | 3/3 squamous epithelium; 2/3 germinal center cells |
| Uterus (3) | 3/3 endometrial glands, endometrial stroma, myometrium |

Abnormal Tissues^{11, 12, 14-16}

| Tumor Type (# tested) | Positively Staining Tumors |
|---|-----------------------------------|
| Breast carcinoma, sporadic primary carcinoma (33) | 28/33 |
| Colorectal carcinoma (90) | 82/90 |
| MSI + HNPCC (45) | 40/45 |
| MSI+ sporadic colorectal carcinomas (22) | 19/22 |
| MSI- sporadic colorectal carcinomas (23) | 23/23 |
| Endometrial cancer (72) | 50/72 |
| Pancreatic endocrine tumors, sporadic (24) | 23/24 |
| Thyroid carcinoma, sporadic nonmedullary (91) | 83/91 |
| Follicular thyroid carcinoma (28) | 27/28 |
| Papillary thyroid carcinoma (37) | 35/37 |
| Undifferentiated thyroid carcinoma (26) | 21/26 |

Français

Réf. M3627

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro*.

Cet anticorps est destiné à être utilisé en laboratoire en vue de l'identification qualitative par microscopie optique des cellules exprimant PTEN dans les tissus sains et néoplasiques en utilisant des méthodes de test immunohistochimiques (IHC). L'identification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. Les résultats doivent être interprétés par un pathologiste qualifié et tenir compte des antécédents cliniques du patient ainsi que d'autres tests diagnostiques.

Synonyme

MMAC (mutated in multiple advanced cancers), TEP1 (TGF- β -regulated and epithelial cell-enriched phosphatase)

Résumé et explication

PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten) est un gène suppresseur de tumeur qui est muté dans un grand nombre de cancers.¹⁻⁴ PTEN est situé sur la sous-bande chromosomique 10q23.3 et code pour une protéine de 403 acides aminés qui agit comme une protéine doublement spécifique et une phosphatase phospholipidique.^{2,3,5,6} En tant que phosphatase phospholipidique, PTEN régule la phosphatidylinositol-3'-kinase en déphosphorylant la position D3 des substrats phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate et phosphatidylinositol (3,4)-biphosphate, antagonisant ainsi la transduction du signal en aval de la phosphatidylinositol-(PI-3) kinase.⁷ Les mutations perte de fonction du gène PTEN conduisent à une activation constitutive de multiples voies de signalisation dont la voie PI3K/Akt qui affecte la prolifération cellulaire, l'apoptose et la migration.^{8,9} Il a été également montré que PTEN contrôlait les taux et l'activité transcriptionnelle de la protéine p53.¹⁰

Se référer aux « Instructions générales de coloration immunohistochimique » de Dako ou aux instructions du système de détection concernant les procédures IHC pour : 1) Principe de procédure, 2) Matériaux requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

Réf. M3627

L'anti-PTEN est fourni sous forme liquide comme surnageant de culture tissulaire (contenant du sérum bovin fœtal) dialysé en utilisant 0,05 mol/L de tampon Tris-HCl, à pH 7,2, et 0,015 mol/L d'azide de sodium. Contient une protéine stabilisante.

Clone : 6H2.1¹¹ Isotype : IgG_{2a}, kappa
Concentration des IgG de souris en mg/L : Voir l'étiquette du flacon.

Le M3627 peut être utilisé à une dilution de 1:100 lors de la procédure IHC faisant appel au système de détection EnVisionTM+. Il ne s'agit là que de conseils. Les concentrations d'anticorps optimales peuvent varier en fonction de l'échantillon et de la méthode de préparation et doivent être déterminées par chaque laboratoire de manière indépendante.

Immunogène

Protéine PTEN humaine recombinante de pleine longueur

Spécificité

Le clone 6H2.1 monoclonal anti-PTEN de souris identifie une bande unique correspondant à un poids moléculaire de 55 kD prévu pour PTEN lors d'analyses par Western Blot de lignées cellulaires homozygotes PTEN MCF-7, T-47D et MDA-MB-435S. Les lignées cellulaires BT-549 et MDA-MB-468 nulles pour le PTEN n'ont pas été réactives avec le clone 6H2.1 par Western Blot. Les immunotransferts de cellules MCF-7 induites pour exprimer PTEN ont démontré une augmentation de l'intensité de la bande à la taille prévue alors qu'une faible bande a été observée sur les immunotransferts des lysats de cellules ZR-75-1 contenant une délétion hémizygote de PTEN et une mutation faux-sens sur l'allèle restant.¹¹ La coloration immunohistochimique des blocs cellulaires inclus en paraffine de cellules Ishikawa 3-H-12 transfectées avec le gène PTEN a été positive alors que les coupes des blocs cellulaires 3-H-12 déficients en PTEN ont été non réactives.¹²

Matériels requis mais non fournis

Se référer aux « Instructions générales de coloration immunohistochimique » de Dako et/ou aux instructions du système de détection. Diluant recommandé pour les procédures IHC :

Antibody Diluent avec composants de réduction du bruit de fond (réf. S3022)

Le contrôle négatif suivant est recommandé pour les procédures IHC :

Mouse IgG_{2a} (code X0943)

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique sous sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, le NaN₃ peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations pour former des 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, respecter les procédures de manipulation appropriées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les réactifs non utilisés doivent être éliminés conformément aux réglementations locales et nationales.

| | |
|--|---|
| Conservation | <p>Conserver entre 2 et 8 °C.</p> <p>Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que des échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.</p> |
| Préparation des échantillons | <p><i>Coupes en paraffine</i> L'anti-PTEN peut être utilisé sur des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine. Le prétraitement des tissus par des enzymes protéolytiques n'est pas recommandé.</p> <p>Les coupes de tissus déparaffinées doivent être traitées à la chaleur avant d'appliquer la procédure de coloration IHC. La restauration de l'épitope par la chaleur (HIER) implique l'immersion des coupes de tissus dans une solution tampon préchauffée et le maintien de la température dans un bain-marie (95–99 °C). D'autres sources de chaleur peuvent être utilisées pour la procédure HIER après validation par rapport à la procédure recommandée. Suivre un protocole de chauffage de 40 minutes pour la procédure HIER effectuée entre 95 et 99 °C ; après traitement thermique, laisser la cuve contenant le tampon et les lames refroidir pendant 20 minutes à température ambiante. Rincer abondamment à l'aide de tampon ou d'eau désionisée après la procédure HIER. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des Silanized Slides (réf. S3003). La Target Retrieval Solution à pH 9,0 (réf. S2368) ou le 10x Concentrate (réf. S2367) sont recommandés.</p> <p><i>Coupes cryostat et frottis cellulaires</i> L'anti-PTEN peut être utilisé pour le marquage des coupes cryostat fixées à l'acétone ou des frottis cellulaires fixés.</p> |
| Procédure de coloration | Suivre la procédure pour le système de détection sélectionné. |
| Interprétation de la coloration | Le schéma de coloration cellulaire pour l'anti-PTEN est cytoplasmique et/ou nucléaire. |

Performances

*Tissus normaux*¹³

| Type de tissu (nb. testés) | Éléments de tissus colorés positivement |
|--|---|
| Surrénale (3) | 2/3 zona glomérulaire ; 2/3 endothélium vasculaire |
| Moelle osseuse (3) | 1/3 macrophages |
| Sein (3) | 2/3 cellules épithéliales canalaire ; 1/3 cellules épithéliales lobulaires ; 1/3 endothélium vasculaire |
| Cerveau, cervelet (3) | 3/3 couche moléculaire et granulaire, neuropile |
| Cerveau, hémisphères cérébraux (3) | 3/3 neurones, astrocytes ; 2/3 neuropile |
| Col de l'utérus (3) | 3/3 muqueuse squameuse ; 1/3 muscle vasculaire lisse, endothélium vasculaire |
| Côlon (2) | 1/2 épithélium glandulaire, cellules ganglionnaires, macrophages ; 1/2 cellules des centres germinatifs ; 2/2 nerfs, endothélium vasculaire |
| Œsophage (3) | 1/3 muqueuse squameuse ; 2/3 nerfs ; 1/3 endothélium vasculaire |
| Cœur (3) | 3/3 endothélium vasculaire ; 1/3 muscle vasculaire lisse ; 1/3 nerfs |
| Rein (3) | 2/3 glomérules, épithélium tubulaire, cellules endothéliales ; 1/3 cellules mésangiales, vaisseaux ; 1/3 cellules de revêtement, cellules interstitielles |
| Foie (3) | 3/3 hépatocytes ; 1/3 canaux biliaires |
| Poumon (3) | 2/3 épithélium bronchique ; 3/3 endothélium vasculaire ; 1/3 muscle vasculaire lisse, macrophages |
| Cellules mésothéliales (3) | 3/3 cellules endothéliales vasculaires |
| Nerf périphérique (2) | 2/2 cellules nerveuses |
| Ovaire (3) | 3/3 stroma ; 1/3 épithélium de surface |
| Pancréas (3) | 2/3 épithélium canalaire, nerfs ; 1/3 épithélium acineux ; 3/3 îlots de Langerhans ; 2/3 endothélium vasculaire |
| Parathyroïde (3) | 2/3 cellules principales |
| Hypophyse (3) | 3/3 pituicytes, neuropile ; 2/3 endothélium vasculaire ; 1/3 nerfs, muscle vasculaire lisse |
| Prostate (3) | 3/3 épithélium glandulaire, stroma fibromusculaire ; 1/3 endothélium vasculaire |
| Glande salivaire (3) | 1/3 épithélium des acini et des canaux ; 2/3 nerfs |
| Muscle squelettique (3) | 3/3 endothélium vasculaire ; 1/3 muscle vasculaire lisse |
| Peau (3) | 3/3 épiderme, follicules pileux, glandes sébacées ; 1/3 glandes apocrines |
| Intestin grêle (3) | 1/3 épithélium glandulaire, muscle lisse, macrophages, cellules des centres germinatifs ; 1/3 épithélium de surface ; 3/3 nerfs ; 3/3 endothélium vasculaire |
| Rate (3) | 1/3 macrophages (rares) ; 1/3 cellules littorales |
| Estomac (3) | 3/3 épithélium glandulaire ; 2/3 endothélium vasculaire ; 1/3 muscle vasculaire lisse, macrophages ; 1/3 nerfs ; 1/3 cellules des centres germinatifs |
| Testicule (3) | 3/3 tubules séminifères ; 1/3 cellules de Leydig, endothélium vasculaire |
| Thymus (3) | 3/3 épithélium thymique |
| Thyroïde (2) | 2/2 négatifs |
| Amygdale (3) | 3/3 épithélium pavimenteux ; 2/3 cellules des centres germinatifs |
| Utérus (3) | 3/3 glandes endométriales, stroma endométrial, myomètre |

Tissus anormaux^{11, 12, 14-16}

| Type de tumeur (nb. testés) | Tumeurs colorées positivement |
|---|--------------------------------------|
| Carcinomes mammaires, carcinomes primitifs sporadiques (33) | 28/33 |
| Carcinomes colorectaux (90) | 82/90 |
| MSI + HNPCC (45) | 40/45 |
| Carcinomes colorectaux sporadiques MSI+ (22) | 19/22 |
| Carcinomes colorectaux sporadiques MSI- (23) | 23/23 |
| Cancers endométriaux (72) | 50/72 |
| Tumeurs pancréatiques endocrines, sporadiques (24) | 23/24 |
| Carcinomes thyroïdiens, sporadiques non médullaires (91) | 83/91 |
| Carcinomes thyroïdiens folliculaires (28) | 27/28 |
| Carcinomes thyroïdiens papillaires (37) | 35/37 |
| Carcinomes thyroïdiens non différenciés (26) | 21/26 |

Deutsch**Code-Nr. M3627****Verwendungszweck**

Zur In-vitro-Diagnostik.

Dieser Antikörper wird im Labor verwendet, um mit Lichtmikroskopie anhand von immunhistochemischen (IHC) Testmethoden PTEN exprimierende Zellen in normalem und neoplastischem Gewebe qualitativ nachzuweisen. Die Identifizierung wird durch die Ergebnisse des Antikörper-Panels unterstützt. Auswertungen müssen von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.

Synonym

MMAC (mutiert in mehreren fortgeschrittenen Krebsarten), TEP1 (TGF- β -regulierte und mit Epithelzellen angereicherte Phosphatase)

Zusammenfassung und Erklärung

PTEN (Phosphatase und Tensin homolog gelöscht auf Chromosom zehn) ist ein Tumorsuppressorgen, das bei vielen Krebsarten mutiert.¹⁻⁴ PTEN befindet sich auf der Chromosomen-Subbande 10q23.3 und codiert ein Protein von 403 Aminosäuren, das sich wie ein zweifach-spezifisches Protein und Phospholipid-Phosphatase verhält.^{2,3,5,6} Als Lipid-Phosphatase reguliert PTEN die Phosphatidylinositol-3'-Kinase durch Dephosphorylierung der D3-Position der Substrate von Phosphatidylinositol (3,4,5)-Triphosphat und Phosphatidylinositol (3,4)-Bisphosphat, wobei der Weitergabe von Signalen auf die Phosphatidylinositol-(PI-3)-Kinase entgegengewirkt wird.⁷ Mutationen im PTEN-Gen mit Funktionsverlust führen zu einer konstitutiven Aktivierung mehrerer Signalwege, darunter auch dem PI3K/Akt-Weg, der sich auf Zellproliferation, Apoptose und Migration auswirkt.^{8,9} Es wurde auch gezeigt, dass PTEN die p53 Proteingehalte sowie die Transkriptionsaktivität reguliert.¹⁰

Siehe *Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako oder Anweisungen des Detektionssystems von IHC-Verfahren, um folgende Angaben zu erhalten: 1) Verfahrensprinzipien, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Mitgelieferte Reagenzien**Code-Nr. M3627**

Anti-PTEN wird in flüssiger Form als Gewebekulturüberstand (mit fötalem Rinderserum) geliefert, der gegen 0,05 mol/L Tris-HCl, pH 7,2 und 0,015 mol/L Natriumazid dialysiert wurde. Enthält Proteine zur Stabilisierung.

Klon: 6H2.1¹¹ Isotyp: IgG_{2a}, Kappa
Konzentration Maus-IgG mg/L: Siehe Fläschchenetikett.

M3627 kann in der IHC mit dem EnVision™+ Detektionssystem bei einer Verdünnung von 1:100 verwendet werden. Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Antikörperkonzentrationen können je nach Probe und Vorbereitungsmethode unterschiedlich sein und sollten von jedem Labor selbst bestimmt werden.

Immunogen

Vollständiges, rekombinantes humanes PTEN Protein

Spezifität

Monoklonales Maus-Anti-PTEN, Klon 6H2.1 identifiziert eine einfache Bande am 55 kD vorausbestimmten Molekulargewicht für PTEN in Western-Blots von MCF-7, T-47D und MDA-MB-435S PTEN homozygoten Zelllinien. In Western-Blot-Analysen waren die PTEN Null-Zelllinien BT-549 und MDA-MB-468 Zelllinien unreaktiv mit dem Klon 6H2.1. Immunoblots von MCF-7 Zellen, die zur Expression von PTEN induziert wurden, wiesen an der erwarteten Größe eine verstärkte Bandenintensität auf, während eine schwache Bande bei Immunoblots von ZR-75-1 Zellysaten beobachtet wurde, die eine hemizygoten Löschung der PTEN und eine Missense-Mutation im verbleibenden Allel aufweisen.¹¹ Bei der immunhistochemischen Färbung paraffineingebetteter Zellblöcke von mit PTEN transfizierten Ishikawa 3-H-12 Zellen wiesen die Zellblöcke eine positive Färbung auf, während Zellblöcke mit mangelnder PTEN 3-H-12 nicht reagierten.¹²

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Siehe *Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako und/oder Anweisungen des Detektionssystems. Empfohlenes Verdünnungsmittel für IHC-Verfahren:

Antibody Diluent with Background Reducing Components (Code-Nr. S3022)
Die folgende Negativkontrolle wird für IHC-Verfahren empfohlen:
Mouse IgG_{2a} (Code-Nr. X0943)

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von NaN₃ können auch in Konzentrationen, die nicht als gefährlich klassifiziert sind, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Entsprechende Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Reagenzien sind entsprechend örtlichen, staatlichen und bundesstaatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Aufbewahrung

Bei 2–8 °C aufbewahren.

Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien anders als entsprechend den in der Packungsbeilage angegebenen Bedingungen aufbewahrt, muss deren Verwendung vom Benutzer validiert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Vorbereitung der Probe*Paraffinschnitte*

Anti-PTEN kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Eine Vorbehandlung des Gewebes mit proteolytischen Enzymen wird nicht empfohlen.

Vor dem IHC-Färbeverfahren müssen die entparaffinierten Gewebeschnitte mit Wärme behandelt werden. Zur hitzeinduzierten Epitopdemaskierung (heat-induced epitope retrieval, HIER) gehört ein Eintauchen der Gewebeschnitte in eine vorgewärmte Pufferlösung und Wärmeerhaltung in einem Wasserbad (95–99 °C). Nach Validierung des empfohlenen Verfahrens können für das HIER-Verfahren auch andere Wärmequellen eingesetzt werden. Für das bei 95–99 °C durchgeführte HIER-Verfahren ein 40-minütiges Hitzeprotokoll verwenden; das Gefäß mit Puffer und Objektträgern nach der Hitzebehandlung 20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen. Nach dem HIER-Verfahren gründlich mit Puffer oder entionisiertem Wasser spülen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträger wird die Verwendung von Silanized Slides (Code-Nr. S3003) empfohlen. Es wird die Verwendung von Target Retrieval Solution pH 9,0 (Code-Nr. S2368) oder 10x Concentrate (Code-Nr. S2367) empfohlen.

Gefrierschnitte und Zellausstriche

Anti-PTEN kann zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten und fixierten Zellausstrichen verwendet werden.

Färbeverfahren

Das empfohlene Verfahren des ausgewählten Detektionssystems befolgen.

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster für Anti-PTEN ist zytoplasmatisch und/oder nukleär.

Leistungsmerkmale
Normale Gewebe¹³





| Gewebetyp (Anz. getestet) | Gewebeelement mit positiver Färbung |
|--------------------------------------|---|
| Nebennieren (3) | 2/3 Zona glomerulosa; 2/3 vaskuläres Endothel |
| Knochenmark (3) | 1/3 Makrophagen |
| Brust (3) | 2/3 duktales Epithelzellen; 1/3 lobuläre Epithelzellen; 1/3 vaskuläres Endothel |
| Gehirn/Zerebellum (3) | 3/3 molekulare und granulare Schicht, Nervenfilz |
| Gehirn/Zerebrum (3) | 3/3 Neuronen, Astrozyten; 2/3 Nervenfilz |
| Zervix (3) | 3/3 squamöse Mukosa; 1/3 glatte Gefäßmuskulatur, vaskuläres Endothel |
| Darm (2) | 1/2 Drüsenepithel, Ganglienzellen, Makrophagen; 1/2 Keimzentrumszellen; 2/2 Nerv, vaskuläres Endothel |
| Ösophagus (3) | 1/3 squamöse Mukosa; 2/3 Nerv; 1/3 vaskuläres Endothel |
| Herz (3) | 3/3 vaskuläres Endothel; 1/3 glatte Gefäßmuskulatur; 1/3 Nerv |
| Niere (3) | 2/3 Glomeruli, Epithel der Nierentubuli, Endothelzellen; 1/3 Mesangiumzellen, Gefäße; 1/3 auskleidende Zellen, Interstitialzellen |
| Leber (3) | 3/3 Hepatozyten; 1/3 Gallengänge |
| Lunge (3) | 2/3 Bronchialepithel; 3/3 vaskuläres Endothel; 1/3 glatte Gefäßmuskulatur, Makrophagen |
| Mesothelzellen (3) | 3/3 vaskuläre Endothelzellen |
| Nerv, peripher (2) | 2/2 Nervenzellen |
| Eierstöcke (3) | 3/3 Stroma; 1/3 Oberflächenepithel |
| Pankreas (3) | 2/3 duktales Endothel, Nerv; 1/3 Azinusepithel; 3/3 Langerhans'sche Inseln.; 2/3 vaskuläres Endothel |
| Nebenschilddrüse (3) | 2/3 Hauptzellen |
| Hypophyse (3) | 3/3 Pituizyten, Nervenfilz; 2/3 vaskuläres Endothel; 1/3 Nerv, glatte Gefäßmuskulatur |
| Prostata (3) | 3/3 Drüsenepithel, fibromuskuläres Stroma; 1/3 vaskuläres Endothel |
| Speicheldrüsen (3) | 1/3 Azinuszellen und Gangepithelium; 2/3 Nerv |
| Skelettmuskulatur (3) | 3/3 vaskuläres Endothel; 1/3 glatte Gefäßmuskulatur |
| Haut (3) | 3/3 Epidermis, Haarfollikel, Talgdrüsen; 1/3 Apokrine Drüsen |
| Dünndarm (3) | 1/3 Drüsenepithel, glatte Muskulatur, Makrophagen, Keimzentrumszellen; 1/3 Oberflächenepithel; 3/3 Nerv; 3/3 vaskuläres Endothel |
| Milz (3) | 1/3 Makrophagen (selten); 1/3 wandständige Makrophagen |
| Magen (3) | 3/3 Drüsenepithel; 2/3 vaskuläres Endothel; 1/3 glatte Gefäßmuskulatur, Makrophagen; 1/3 Nerv; 1/3 Keimzentrumszellen |
| Hoden (3) | 3/3 Hodenkanälchen; 1/3 Leydig-Zellen, vaskuläres Endothel |
| Thymus (3) | 3/3 Thymusepithel |
| Schilddrüse (2) | 2/2 negativ |
| Mandeln (3) | 3/3 Plattenepithel; 2/3 Keimzentrumszellen |
| Uterus (3) | 3/3 endometriale Drüsen, endometriales Stroma, Myometrium |


Abnormale Gewebe^{11, 12, 14-16}

| Tumortyp (Anz. getestet) | Tumor mit positiver Färbung |
|---|------------------------------------|
| Brustkarzinom, sporadisches Primärkarzinom (33) | 28/33 |
| Kolorektales Karzinom (90) | 82/90 |
| MSI + HNPCC (45) | 40/45 |
| MSI+ sporadische kolorektale Karzinome (22) | 19/22 |
| MSI- sporadische kolorektale Karzinome (23) | 23/23 |
| Endometriales Karzinom (72) | 50/72 |
| Endokrine Pankreastumore, sporadisch (24) | 23/24 |
| Thyroidkarzinom, sporadisch nicht medullär (91) | 83/91 |
| Follikuläres Schilddrüsenkarzinom (28) | 27/28 |
| Papilläres Schilddrüsenkarzinom (37) | 35/37 |
| Undifferenziertes Schilddrüsenkarzinom (26) | 21/26 |

References
Bibliographie
Literaturangaben

1. Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, Wang SI, Puc J, Miliareisis C, Rodgers L, McCombie R, Bigner SH, Giovanella BC, Ittmann M, Tycko B, Hibshoosh H, Wigler MH, Parsons R. PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science* 1997; 275(5308):1943-1947
2. Steck PA, Pershouse MA, Jasser SA, Yung WK, Lin H, Ligon AH, Langford LA, Baumgard ML, Hattier T, Davis T, Frye C, Hu R, Swedlund B, Teng DH, Tavtigian SV. Identification of a candidate tumour suppressor gene, MMAC1, at chromosome 10q23.3 that is mutated in multiple advanced cancers. *Nat Genet* 1997; 15(4):356-362
3. Li DM, Sun H. TEP1, encoded by a candidate tumor suppressor locus, is a novel protein tyrosine phosphatase regulated by transforming growth factor beta. *Cancer Res* 1997; 57(11):2124-2129
4. Teng DH, Hu R, Lin H, Davis T, Iliev D, Frye C, Swedlund B, Hansen KL, Vinson VL, Gumpfer KL, Ellis L, El-Naggar A, Frazier M, Jasser S, Langford LA, Lee J, Mills GB, Pershouse MA, Pollack RE, Tornos C, Troncoso P, Yung WK, Fujii G, Berson A, Steck PA, et al. MMAC1/PTEN mutations in primary tumor specimens and tumor cell lines. *Cancer Res* 1997; 57(23):5221-5225
5. Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. *J Biol Chem* 1998; 273(22):13375-13378
6. Myers MP, Stolarov JP, Eng C, Li J, Wang SI, Wigler MH, Parsons R, Tonks NK. P-TEN, the tumor suppressor from human chromosome 10q23, is a dual-specificity phosphatase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94(17):9052-9057
7. Cantley LC, Neel BG. New insights into tumor suppression: PTEN suppresses tumor formation by restraining the phosphoinositide 3-kinase/AKT pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(8):4240-4245. Review
8. Downward J. Mechanisms and consequences of activation of protein kinase B/Akt. *Curr Opin Cell Biol* 1998; 10(2):262-267
9. Hill MM, Hemmings BA. Inhibition of protein kinase B/Akt: implications for cancer therapy. *Pharmacol Ther* 2002; 93(2-3):243-251
10. Freeman DJ, Li AG, Wei G, Li HH, Kertesz N, Lesche R, Whale AD, Martinez-Diaz H, Rozengurt N, Cardiff RD, Liu X, Wu H. PTEN tumor suppressor regulates p53 protein levels and activity through phosphatase-dependent and -independent mechanisms. *Cancer Cell* 2003; 3(2):117-130
11. Perren A, Weng LP, Boag AH, Ziebold U, Thakore K, Dahia PL, Komminoth P, Lees JA, Mulligan LM, Mutter GL, Eng C. Immunohistochemical evidence of loss of PTEN expression in primary ductal adenocarcinomas of the breast. *Am J Pathol* 1999; 155(4):1253-1260
12. Pallares J, Bussaglia E, Martinez-Guitarte JL, Dolcet X, Llobet D, Rue M, Sanchez-Verde L, Palacios J, Prat J, Matias-Guiu X. Immunohistochemical analysis of PTEN in endometrial carcinoma: a tissue microarray study with a comparison of four commercial antibodies in correlation with molecular abnormalities. *Mod Pathol* 2005; 18(5):719-727
13. IHC003 Report On File
14. Zhou XP, Loukola A, Salovaara R, Nystrom-Lahti M, Peltomaki P, de la Chapelle A, Aaltonen LA, Eng C. PTEN mutational spectra, expression levels, and subcellular localization in microsatellite stable and unstable colorectal cancers. *Am J Pathol* 2002; 161(2):439-447
15. Perren A, Komminoth P, Saremaslani P, Matter C, Feurer S, Lees JA, Heitz PU, Eng C. Mutation and expression analyses reveal differential subcellular compartmentalization of PTEN in endocrine pancreatic tumors compared to normal islet cells. *Am J Pathol* 2000; 157(4):1097-1103
16. Gimm O, Perren A, Weng LP, Marsh DJ, Yeh JJ, Ziebold U, Gil E, Hinze R, Delbridge L, Lees JA, Mutter GL, Robinson BG, Komminoth P, Dralle H, Eng C. Differential nuclear and cytoplasmic expression of PTEN in normal thyroid tissue, and benign and malignant epithelial thyroid tumors. *Am J Pathol* 2000; 156(5):1693-1700

| | | |
|---|--|---|
| REF Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer |  Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich |  Consult instructions for use <i>Consulter les instructions d'utilisation</i> <i>Gebrauchsanweisung beachten</i> |
|  Manufacturer Fabricant Hersteller | LOT Batch code Code du lot Chargenbezeichnung |  Use by Utiliser jusque Verwendbar bis |
| EC REP Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU | IVD In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum | |


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

EC REP
Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark
Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595
www.dako.com

PT0039/Rev C