

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human CDX2
Klon DAK-CDX2
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

Kód GA080

Použití	<p>Pro diagnostiku in vitro.</p> <p>FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CDX2, klon DAK-CDX2, připravená k použití (Dako Omnis), je určena pro použití v imunohistochemii (IHC) společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka může být užitečným nástrojem při klasifikaci adenokarcinomů a karcinoidů v gastrointestinálním traktu (1). Diferenční klasifikaci napomáhají výsledky z panelu protilátek. Klinickou interpretaci zbarvení nebo jeho nepřítomnosti je třeba doplnit morfologickým vyšetřením s využitím patřičných kontrol a vyhodnotit s přihlédnutím k pacientově klinické anamnéze a k dalším diagnostickým testům provedeným kvalifikovaným patologem. Tato protilátka je určena k použití po primární diagnóze tumoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.</p>
Synonyma antigenu	Homeobox proteinu 2 kaudálního typu (2).
Souhrn a výklad	<p><i>Cdx2</i> je lidský homolog homeobox genu kaudálního typu mušky <i>Drosophila</i>, který kóduje transkripční faktor exprimovaný v intestinálních epiteliálních buňkách dospělých savců. Transkripční faktor CDX2 reguluje buňky proliferace diferenciací intestinálních epiteliálních buněk (2-4). Předpokládá se, že členové genové rodiny <i>Cdx</i> hrají důležitou roli v tvorbě a udržování intestinálního fenotypu během vývoje prostřednictvím transkripční aktivity diferenciovanych intestinálních genů (3, 4). Protein CDX2 je exprimovaný v jádrech intestinálních epiteliálních buněk duodena až po rektum (5). Exprese CDX2 byla zjištěna v normálních intestinálních epiteliálních buňkách dospělých jedinců, jako jsou nasákové, pohárkové, endokrinní a Panethovy buňky. Rozptýlená exprese byla pozorována v pankreatických duktulech, žádná exprese však nebyla pozorována v ostatních testovaných normálních tkáních/buňkách, včetně adipocytů, kůry a dřeně nadledviny, epitelu žlučového kanálku, epitelu prsu, žlučníku, žaludeční sliznice (s výjimkou žláz s intestinální metaplazií), kůry a dřeně ledviny, jater, alveolu plic, lymfatické uzliny, mezotelu, vaječníku, kůže (skvamózního epitelu a potních žláz), varlat nebo thyroideální žlázy (5, 6).</p> <p>Expresce CDX2 byla hlášena u většiny kolorektálních karcinomů, včetně primárních i metastatických nádorů (5-9). Expresce CDX2 byla také hlášena u mnoha gastrických adenokarcinomů a v karcinomech GI traktu a vysoký stupeň exprese byl pozorován v karcinomech středního střeva (6-10). Expresce CDX2 byla také pozorována v mucinních adenokarcinomech vaječníku a adenokarcinomech močového měchýře, slinivky břišní a prostaty (5-9, 11, 12).</p> <p>V příručce <i>Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení) společnosti Dako nebo v návodu k systému detekce pro IHC metody naleznete informace týkající se těchto témat: Princip metody, Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, Skladování, Příprava vzorku, Postup barvení, Kontrola kvality, Řešení problémů, Interpretace zbarvení, Obecná omezení.</p>
Dodávaná reagentie	<p>Monoklonální myší protilátka připravená k použití se dodává v kapalné podobě v pufru s obsahem stabilizujícího proteinu a 0,015 mol/l azidu sodného.</p> <p><u>Klon</u>: DAK-CDX2. <u>Izotyp</u>: IgG1, kappa.</p>
Imunogen	Rekombinantní lidský CDX2 odpovídající aminokyselinám 1-165.
Specifita	V testech Western blot s buněčnými lyzáty Caco-2 značila protilátka velký pruh o molekulové hmotnosti 37 kDa a 40 kDa odpovídající očekávané molekulové hmotnosti CDX2 (3). Protilátkou byly označeny další pruhy o velikosti 17 kDa a 19 kDa.
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">1. Pro diagnostiku in vitro.2. Určeno pro profesionální uživatele.3. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN₃), který je v čisté formě vysoce toxický. Koncentrace azidu sodného v produktu není sice klasifikována jako nebezpečná, nicméně sloučenina může reagovat s olovem a mědí v odpadním potrubí a vytvářet vysoce explozivní azidy těchto kovů. Při likvidaci splachujte dostatečným množstvím vody, aby nedocházelo k usazování azidů kovů v potrubí.

4. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření.
5. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.
6. Nespotřebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.

Uchovávání

Skladujte při teplotě 2–8 °C. Během skladování musí být víčko uzavřené. Nepoužívejte po datu expirace uvedeném na lahvičce. Aplikační stabilita je 80 hodin. Aplikační stabilitu sleduje software Dako Omnis. Pokud se reagentie skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku se neprojevuje žádnými známkami. Proto je nutno provádět současně s testováním vzorků pacienta pozitivní a negativní kontroly. Pokud zpozorujete neočekávané zbarvení, které nelze vysvětlit změnami laboratorních postupů, a máte podezření, že se jedná o problém s protilátkou, obraťte se na technickou podporu společnosti Dako.

Šablona protokolu barvení*

Krok		Komentáře
Fixace/ Fixace	Fixováno ve formalínu, zalito v parafínu	Odstranění parafínu v přístroji
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, FLEX, High pH (kód GV804)	30 min HIER
Protilátka	Ready-to-use	25minutová inkubace
Negativní kontrola	FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)	25minutová inkubace
Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800) + EnVision FLEX+ Mouse LINKER (kód GV821)	Blok: 3 min; Link: 10 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Kontrastní barvivo	Hematoxylin (kód GC808)	3minutová inkubace
Kontrolní tkáň	Tračník a slinivka břišní	Nukleární zbarvení
Sklička	FLEX IHC Microscope Slides (kód K8020)	Doporučeno kvůli lepší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům.
Montáž	Je vyžadována bezvodá permanentní montáž	Po barvení je třeba řezy dehydratovat, vyčistit a montovat za použití permanentní montážní metody
Vybavení	Dako Omnis	Činidla se dodávají v ampulkách určených pro příslušný přístroj

*Uživatel se musí vždy seznámit s podrobnými pokyny k barvicímu postupu a s pokyny týkajícími se zacházení s produktem, které jsou uvedené v příbalové informaci.

Příprava vzorku

Parafinové řezy: Protilátku lze používat k značení řezů tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Vzorky tkání je nutno rozřezat na řezy o tloušťce 4 µm.

Předběžné zpracování: Je vyžadováno předběžné zpracování tkáňových řezů fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER). Doporučuje se předběžné zpracování tkání HIER pomocí naředěného roztoku EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), kód GV804. Odstranění parafínu, rehydratace a vyhledání cíle se provádějí v přístroji Dako Omnis. Viz Základní uživatelská příručka Dako Omnis.

Přístroj Dako Omnis zajistí, aby tkáňové řezy během předběžného zpracování a následného imunohistochemického barvení nevyschly. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat podložní skla FLEX IHC Microscope Slides, kód K8020.

Postup barvení

Program: V softwaru přístroje Dako Omnis jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Podrobné pokyny ke vkládání podložních skel a plnění činidel naleznete v Základní uživatelské příručce Dako Omnis. Pokud není v systému Dako Omnis připraven protokol, kontaktujte technickou podporu výrobce Dako. Všechny kroky inkubace se provádějí při teplotě 32 °C v přístroji Dako Omnis.

Vizualizace: Doporučený vizualizační systém je EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), kód GV800 v kombinaci s EnVision FLEX+ Mouse LINKER (Dako Omnis), kód GV821. Vizualizace se provádí v přístroji Dako Omnis.

Kontrastní barvení: Doporučené kontrastní barvivo je Hematoxylin (Dako Omnis), kód GC808. Kontrastní barvení se provádí v přístroji Dako Omnis.

Montáž: Po provedení barvení v přístroji Dako Omnis se řezy musí dehydratovat, vyčistit a namontovat pomocí permanentní montážní metody.

Kontrola kvality: Tkáň pro pozitivní a negativní kontroly a také činidlo pro negativní kontrolu je nutno testovat vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat buňky tračnicku a slinivky břišní a tyto buňky/struktury musí zobrazovat vzor reakce, jak je stanoveno pro tuto tkáň v části „Charakteristiky účinnosti“. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je FLEX Universal Negative Control, Mouse (Dako Omnis), kód GA750.

Interpretace zbarvení

Buněčný barvicí vzor je nukleární.

Charakteristiky účinnosti

Normální tkáně: Slizniční epitelální buňky ve slepém střevu vykazují středně silnou až silnou reakci barvení, zatímco duktální a rozptýlené interkalatové/centrální sekreční epitelální buňky ve slinivce břišní vykazují slabou až středně silnou reakci zbarvení jádra.

Typ tkáně (testovaný počet)	Označené prvky tkáně
Děloha (3)	0/3
Děložní hrdlo (3)	0/3
Hypofýza (3)	0/3
Jícen (3)	0/3
Kostní dřevina (2)	0/2
Kůže (3)	0/3
Ledvina (3)	0/3
Mozek/malý mozek (3)	0/3
Mozek/velký mozek (3)	0/3
Nadledvina (2)	0/2
Pankreas (3)	1/3 duktální epitel (1 %)
Plíce (3)	0/3
Prostata (3)	0/3
Prs (2)	0/2
Slepé střevo (6)	6/6 nukleární epitelální buňky
Štítná žláza (3)	0/3
Trulsté střevo (3)	3/3 glandulární epitel (10–75 %)
Vaječník (3)	0/3
Žaludek (3)	1/3 gastrický epitel (< 1 %)










Abnormální tkáně:

Protílátka označila typy nádorů kolorekta, ilea / slepého střeva, žaludku a vaječníků s vysokým exprimačním číslem 60/62 (1). Nebylo nalezeno žádné značení u 5 plicních karcinoidů, 32 plicních karcinomů skvamózních buněk, 5 adenokarcinomů buněk vaječníků a 6 adenokarcinomů sérových buněk vaječníků (1).

Literatura

- Borrisholt M, Nielsen S, Vyberg M. Demonstration of CDX2 is highly antibody dependent. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013;21:64–72.
- Drummond F, Putt W, Fox M, Edwards YH. Cloning and chromosome assignment of the human CDX2 gene. *Ann Hum Genet* 1997;61:393-400.
- Suh E, Chen L, Taylor J, Traber PG. A homeodomain protein related to caudal regulates intestine-specific gene transcription. *Mol Cell Biol* 1994;14:7340-51.
- Suh E, Traber PG. An intestine-specific homeobox gene regulates proliferation and differentiation. *Mol Cell Biol* 1996;16:619-25.
- Moskaluk CA, Zhang H, Powell SM, Cerilli LA, Hampton GM, Frierson HF Jr. Cdx2 protein expression in normal and malignant human tissues: an immunohistochemical survey using tissue microarrays. *Mod Pathol* 2003;16:913-9.
- Barbareschi M, Murer B, Colby TV, Chilosi M, Macri E, Loda M, Doglioni C. CDX-2 homeobox gene expression is a reliable marker of colorectal adenocarcinoma metastases to the lungs. *Am J Surg Pathol* 2003;27:141-9.
- Suh N, Yang XJ, Tretiakova MS, Humphrey PA, Wang HL. Value of CDX2, villin, and alpha-methylacyl coenzyme A racemase immunostains in the distinction between primary adenocarcinoma of the bladder and secondary colorectal adenocarcinoma. *Mod Pathol* 2005;18:1217-22.
- Werling RW, Yaziji H, Bacchi CE, Gown AM. CDX2, a highly sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2003;27:303-10.
- Kaimaktchiev V, Terracciano L, Tornillo L, Spichtin H, Stoios D, Bindi M, et al. The homeobox intestinal differentiation factor CDX2 is selectively expressed in gastrointestinal adenocarcinomas. *Mod Pathol* 2004;17:1392-9.
- Saqi A, Alexis D, Remotti F, Bhagat G. Usefulness of CDX2 and TTF-1 in differentiating gastrointestinal from pulmonary carcinoids. *Am J Clin Pathol* 2005;123:394-404.
- Herawi M, De Marzo AM, Kristiansen G, Epstein JI. Expression of CDX2 in benign tissue and adenocarcinoma of the prostate. *Hum Pathol* 2007;38:72-8.
- Mallo GV, Rechreche H, Frigerio JM, Rocha D, Zweibaum A, Lacasa M, et al. Molecular cloning, sequencing and expression of the mRNA encoding human Cdx1 and Cdx2 homeobox. Down-regulation of Cdx1 and Cdx2 mRNA expression during colorectal carcinogenesis. *Int J Cancer* 1997;74:35-44.

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo		Teplotní rozmezí od do	 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek
	Výrobce	 LOT	Číslo šarže		Obsah postačující pro <n> testů
	Použitelné do		Viz návod k použití		Autorizovaný zástupce v Evropské unii



Agilent Technologies, Inc.
5301 Stevens Creek Blvd.
Santa Clara, CA 95051
United States

Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com

TX02438/01

Revize 2020.06