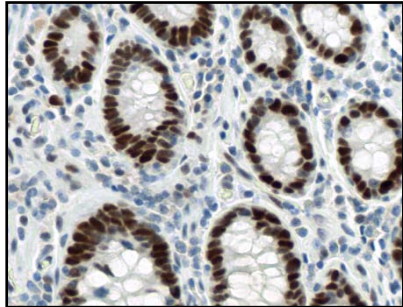


CONFIRM anti-MSH6 (44) Mouse Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4455



Obrázek 1. Barvení karcinomu tlustého střeva protilátkou CONFIRM anti-MSH6 (44) Mouse Monoclonal Primary Antibody

Tento výrobek musí být interpretován kvalifikovaným patologem ve spojení s histologickým vyšetřením, relevantními klinickými informacemi a vhodnými kontrolami.

Tato protilátka je určena k diagnostice *in vitro* (IVD).

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

CONFIRM anti-MSH6 (44) Mouse Monoclonal Antibody rozpoznává MSH6, což je jeden z několika klinicky významných proteinů pro korekci správného párování (MMR), u kterých dochází k mutacím v rodinách s hereditárním nepolypózním kolorektálním karcinomem (HNPCC).^{1,2,3} Nosiči těchto mutací mají během celého života vysoké riziko vývoje kolorektálního karcinomu a několika jiných druhů karcinomu následkem akumulace chyb při replikaci DNA v proliferujících buňkách, což je fenomén známý jako mikrosatelitní nestabilita (MSI). V normálních buňkách tvoří protein MSH6 komplexy (heterodimery) s proteinem MSH2.^{4,5} Tyto heterodimery způsobují konformační změny v DNA, které vedou k navázání dalšího heterodimerového komplexu proteinů MSH1 PMS a k excizní opravě postižené DNA. Mutace těchto proteinů nebo jejich chybění má za následek častou MSI a somatické mutace vzniklé chybou při replikaci.

HNPCC představuje 1-3 % všech kolorektálních karcinomů, přičemž ztráta MSH6 se vyskytuje v 9 % z nich (téměř 90 % případů HNPCC vykazuje ztrátu MSH1 nebo MSH2).⁶ U lidí s HNPCC bylo identifikováno více než 300 různých mutací v rodině MMR proteinů. Nádorový fenotyp spojený s HNPCC je obecně charakterizován ztrátou imunohistochemické exprese MMR proteinů, zejména MLH1, MSH2, MSH6 a PMS2.^{7,8} Nedostatek těchto proteinů úzce souvisí se stupněm MSI v nádoru. Nedostatek MMR proteinů se proto používá v klasifikaci nádorů jako MSI-H (vysoký stupeň MSI), MSI-L (nízký stupeň MSI) nebo MSS (MS stabilní).⁹ Každá klasifikace má význam pro léčbu a prognózu nádoru. Pacienti klasifikovaní jako MSI-H mají sice mnohem vyšší pravděpodobnost vývoje karcinomu, ale také mají významně vyšší výhodu v přežití, nezávisle na stádiu či stupni, ve srovnání s pacienty s MSS, kteří jsou obvykle charakterizováni chromozomální instabilitou. Charakteristickým rysem HNPCC spojených s MSH6 je pozorování, že mnozí nosiči vykazují nádorový fenotyp MSI-L nebo MSS. Funkční nadbytečnost v systému korekce správného párování DNA by mohla vysvětlit méně významnou MSI pozorovanou u nádorů s mutací v zárodečné linii MSH6.⁴ Osoby se zjištěným nedostatkem MSH2 mají často také nedostatek MSH6, snad následkem nestability proteinu, když nemůže dojít k heterodimerizaci.

DODÁVANÁ ČINIDLA

Protílátka CONFIRM anti-MSH6 (44) Mouse Monoclonal Primary Antibody obsahuje dostatek činidla pro 50 testů.

Jeden 5 mL dávkovač protilátky CONFIRM anti-MSH6 (44) obsahuje přibližně 0,505 µg myší monoklonální protilátky.

Protílátka je naředěna fyziologickým roztokem s fosfátovým pufrům, obsahujícím proteinový nosič a konzervační prostředek.

Celková proteinová koncentrace činidla je asi 3 mg/mL. Koncentrace specifické protilátky je přibližně 0,101 µg/mL. V tomto produktu není známa žádná nespecifická reaktivita protilátky. CONFIRM anti-MSH6 (44) je myší monoklonální protilátka získaná ze supematantu tkáňových buněk.

Tato protilátka je optimalizována pro použití v barvicích automatech Ventana automated slide stainer spolu s detekčními soupravami Ventana. Není vyžadována rekonstituce, smísení, ředění nebo titrace.

V příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě Ventana naleznete následující podrobné popisy: (1) Principy a metody, (2) Potřebné materiály a činidla, které však nejsou součástí dodávky, (3) Sběr vzorků a příprava pro analýzu, (4) Kontrola kvality, (5) Řešení problémů, (6) Interpretace výsledků a (7) Obecná omezení.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ SE NEDODÁVÁ

Barvicí činidla, například detekční soupravy Ventana (tj. detekční souprava *ultraView* Universal DAB Detection Kit) a přidavné materiály, včetně sklíček s tkání pro negativní a pozitivní kontrolu, nejsou součástí dodávky.

SKLADOVÁNÍ

Uchovávejte při teplotě 2 až 8°C. Chraňte před mrazem.

Aby byl zajištěn správný výkon činidla a stabilita protilátky, musí se dávkovač po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve vertikální poloze do chladničky.

Každý dávkovač s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Je-li řádně skladováno, je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po vypršení data expirace.

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami Ventana na barvicích automatech Ventana automated slide stainer jsou vhodné tkáně, zpracované běžným způsobem, fixované ve formalínu a zalité v parafínu. Doporučené vhodné fixativum je 10% neutrální pufovaný formalin.¹⁰ V zájmu zachování antigenosti nařezaných tkáňových řezů se musí řezy tkání barvit okamžitě.

Doporučuje se provádět souběžně s neznámými vzorky též pozitivní a negativní kontroly.

UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ PŘEDPISY

1. K diagnostice *in vitro*.
2. Tento produkt obsahuje 1 % nebo méně bovinního séra, které se používá k výrobě této protilátky.
3. Zabraňte kontaktu činidel s očima a sliznicí. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
4. Zamezte mikrobiologické kontaminaci činidel.
5. Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a místních předpisech.

POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky Ventana byly vyvinuty za účelem použití v barvicích automatech Ventana automated slide stainer ve spojení s detekčními soupravami a příslušenstvím výrobce Ventana. Doporučené barvicí protokoly pro přístroje BenchMark XT a BenchMark ULTRA s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit jsou uvedeny v tabulce 1.

Parametry automatických procedur lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v Návodu k obsluze. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v příbalovém letáku k příslušné detekční soupravě výrobce Ventana.

Tabulka 1. Doporučené barvicí protokoly pro CONFIRM anti-MSH6 (44) s detekcí soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit na přístrojích BenchMark XT/BenchMark ULTRA.

Typ postupu	Způsob
Odstraňování parafínu	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Standardní úprava buněk Cell Conditioning 1
Enzym (proteáza)	Není vyžadováno
Protilátka (primární)	BenchMark XT instrumen Asi 16 minut, 37°C Přístroj BenchMark ULTRA instrument Asi 20 minut, 36°C
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty
Po kontrastním barvení	Bluing Reagent, 4 minuty

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání může být potřeba zvýšit nebo snížit inkubační doby primární protilátky, úpravy buněk nebo předběžného zpracování proteázou na jednotlivých vzorcích a v závislosti na použité metodě detekce. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“.¹¹

TKÁŇ PRO POZITIVNÍ KONTROLU

Příklady pozitivně se barvicích buněk pro CONFIRM anti-MSH6 (44) jsou exprimovány v karcinomu tlustého střeva a karcinomu prsu.

INTERPRETACE ZABARVENÍ

Buněčný barvicí vzor pro CONFIRM anti-MSH6 (44) je nukleární.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Protilátka CONFIRM anti-MSH6 (44) je optimalizována pro použití na přístrojích Ventana BenchMark XT a BenchMark ULTRA ve spojení s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit (REF 760-500) při inkubaci primární protilátky v délce 16 nebo 20 minut. Uživatel však musí jednotlivé laboratorní výsledky získané použitím tohoto činidla validovat. Při použití CONFIRM anti-MSH6 (44) bylo pozorováno pozitivní barvení proliferujících buněk jak v normálních, tak v nádorových tkáních.

CHARAKTERISTIKY ÚČINNOSTI

1. Specificita protilátky CONFIRM anti-MSH6 (44) Mouse Monoclonal Primary Antibody byla stanovena testováním normálních a nádorových tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu.

U normálních tkání byly výsledky následující: (0/3) velký mozek, (0/3) malý mozek, (3/3) nadledvinka, (0/3) vaječník, (2/3) slinivka břišní, (2/2) příštítná žláza, (0/3) hypofýza, (3/3) varlata, (1/3) štítná žláza, (3/3) prs, (1/3) slezina, (2/3) mandle, (2/3) brzlík, (0/3) myeloidní tkáň, (0/3) plíce, (0/3) myokard, (1/3) jícen, (1/3) gastrický fundus, (2/3) tenké střevo, (3/3) tračník, (0/3) játra, (1/3) slinná žláza, (1/2) ledvina, (2/3) prostata, (1/3) endometrium, (2/3) děložní hrdlo, (0/3) kosterní sval, (3/3) kůže, (0/3) nerv, (1/3) mezotel a plíce.

Nádorové tkáně včetně barvených: (1/1) Atypický meningeom, (1/1) maligní ependymom, (0/1) maligní oligodendrogliom, (1/1) papilární serózní adenokarcinom ovaria, (1/1) papilární mucinózní adenokarcinom ovaria, (1/1) karcinom ostrůvkových buněk, (1/1) adenokarcinom pankreatu, (1/1) seminom, (1/1) embryonální karcinom, (1/1) medulární karcinom, (1/1) papilární karcinom štítné žlázy, (1/1) intraduktální karcinom, (2/2) karcinom prsu, (1/1) difúzní lymfom B řady, (1/1) malobuněčný nediferencovaný karcinom plic, (1/1) karcinom plic z dlaždicových buněk, (0/1) adenokarcinom plic, (1/1) karcinom jícnu z dlaždicových buněk, (1/1) adenokarcinom jícnu, (1/1) adenokarcinom tlustého střeva, (1/1) adenokarcinom žaludku, (1/1) adenokarcinom tenkého střeva, (0/1) karcinom tenkého střeva z intersticiálních buněk, (0/1) karcinom tlustého střeva z intersticiálních buněk, (1/1) adenokarcinom rekta, (1/1) karcinom rekta z intersticiálních buněk, (0/1) hepatocelulární karcinom, (0/1) hepatoblastom, (1/1) karcinom z jasných buněk, (0/1) adenokarcinom prostaty, (1/1) karcinom prostaty z přechodných buněk, (0/1) leiomyom, (0/1) endometriální adenokarcinom, (0/1) endometriální karcinom z jasných buněk, (1/3) karcinom z dlaždicových buněk, (1/1) embryonální rhabdomyosarkom, (0/1) maligní melanom, (0/1) basocelulární karcinom, (0/1) neurofibrom, (1/1) neuroblastom, (1/1) epitheliální maligní

- mesotheliom, (2/2) difúzní maligní lymfom, (1/1) Hodgkinův lymfom, (1/1) difúzní maligní lymfom, (1/1) karcinom měchýře z přechodných buněk s metaplasíí dlaždicových buněk, (1/2) leiomyosarkom, (1/1) osteosarkom femuru, (0/1) rhabdomyosarkom z vřetenových buněk, (0/1) maligní melanom, (47/79) adenokarcinom, (12/19) mucinózní adenokarcinom, (2/2) tubulovilózní adenokarcinom, (1/4) tubulární adenokarcinom, (2/2) adenoskvamózní karcinom, (2/2) neuroendokrinní karcinom, (2/2) leiomyosarkom, (10/10) normální tlusté střevo, (2/4) hladký sval tlustého střeva, (8/9) metastatický adenokarcinom lymfatické uzliny přilehlé ke karcinomu, (22/30) tkáň tlustého střeva přilehlá ke karcinomu, (3/4) tkáň rekta přilehlá ke karcinomu a (2/9) tkáň lymfatické uzliny.
2. Reprodukovatelnost mezi šaržemi byla stanovena testováním 3 šarží na 1 bloku tkání (3 tkáně v jednom bloku) na barvicím automatu BenchMark XT instrument. 3 ze 3 vzorků všech 3 šarží měly ekvivalentní skóre.
 3. Reprodukovatelnost mezi cykly byla stanovena barvením 2 bloků tkání (3 tkáně v jednom bloku, celkem 6 tkání) na 5 sklech na přístroji BenchMark XT instrument po dobu pěti dnů, které nenásledují po sobě. 149 z 150 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
 4. Reprodukovatelnost uvnitř cyklu byla stanovena barvením 2 bloků tkání (3 tkáně v jednom bloku, celkem 6 tkání) na 14 sklech na přístroji BenchMark XT instrument. 83 z 84 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
 5. Reprodukovatelnost barvení uvnitř platformy byla stanovena na základě barvení 2 bloků tkání (3 tkáně v jednom bloku) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark XT. 90 z 90 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
 6. Reprodukovatelnost barvení mezi platformami byla stanovena na základě barvení 1 bloku tkání (3 tkáně v jednom bloku) na 5 sklech na 3 přístrojích BenchMark XT a 3 přístrojích BenchMark ULTRA. 90 z 90 testovaných vzorků mělo ekvivalentní skóre.
 7. Kompatibilita s detekčními soupravami *VIEW* DAB a *ultraView* Universal DAB Detection Kits.

REFERENCE

1. Lawes, DA. The role of MLH1, MSH2 and MSH6 in the development of multiple colorectal cancers. *Br. J. Cancer.* 2005;93:472-477.
2. Miyaki, M. Germline mutation of MSH6 as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat. Genet.* 1997;17:271-272.
3. Offit, K. MSH6 mutations in hereditary nonpolyposis colon cancer: another slice of the pie. *J. Clin. Oncol.* 2004;22:4449-4451.
4. Acharya S, Wilson T, Gradia S, Kane MF, Guerrette S, Marsischky GT, Kolodner R, Fishel R. *hMSH2* forms specific mispairbinding complexes with *hMSH3* and *hMSH6*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:13629-13634.
5. Guerrette S, Wilson T, Gradia S, Fishel R. Interactions of human *hMSH2* with *hMSH3* and *hMSH6* with *hMSH6*: examination of mutations found in hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Mol Cell Biol.* 1996;18:6616-6623.
6. Aaltonen LA, Salovaara R, Kristo P, Canzian F, Hemminki A, Peltomaki P, Chadwick RB, Kaariainen H, Eskelinen M, Jarvinen H, Mecklin JP, de la Chapelle A: Incidence of hereditary nonpolyposis colorectal cancer and the feasibility of molecular screening for the disease. *N Engl J Med.* 1998;338:1481-1487.
7. Caldés, T. Immunohistochemistry and microsatellite instability testing for selecting MLH1, MSH2 and MSH6 mutation carriers in hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Oncol. Rep.* 2004;12:621-629.
8. Ellis NA. Value of Immunohistochemical Detection of DNA Mismatch Repair Proteins in Predicting Germline Mutation in Hereditary Colorectal Neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2005 Jan 29(1):96-104.
9. Berends MJW, Wu Y, Sijmons RH, Mensink RGJ, van der Sluis T, Hordijk-Hos JM, deVries EGE, Hollema H, Karrenbeld A, Buys CH, van der Zee AGJ, Hofstra RMW, Kleibouker JH. Molecular and clinical characteristics of *MSH6* variants: an analysis of 25 index carriers of a germline variant. *Am J Hum Genet.* 2002;70:26-37
10. Sheehan DC, Hrapchak BB. *Theory and Practice of Histotechnology*, 2nd Edition. St. Louis, MO: The C.V. Mosby Company; 1980.
11. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances. Manual of Clinical Laboratory Immunology*, 6th edition. In: NR Rose, ed. ASM Press; 2002.

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

CONFIRM, *ultra*VIEW, BENCHMARK, VENTANA a logo Ventana jsou ochranné známky společnosti Roche.

Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

Konečnému uživateli je poskytována společností Ventana jednorázová licence v souladu s patenty USA, čísla 6045759, 6192945, 6416713, 6945128 a 7378058 a všemi zahraničními stejnopisy.

KONTAKTNÍ INFORMACE



Ventana Medical Systems, Inc.
1910 E. Innovation Park Drive
Tucson, Arizona 85755
USA

+1 520 887 2155

+1 800 227 2155 (USA)



www.ventanamed.com

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
D-68305 Mannheim
Germany