

**Monoclonal Mouse
Anti-Human COX-2
Clone CX-294**

**ENGLISH
Code M3617**

Intended use

For In Vitro Diagnostic Use.

This antibody is intended for laboratory use to identify qualitatively by light microscopy COX-2 expressing cells in normal and neoplastic tissues using immunohistochemical (IHC) test methods. The clinical interpretation of any positive staining or its absence should be complemented by morphological and histological studies with proper controls. Evaluations should be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified individual.

Synonym

Cyclooxygenase-2

Summary and explanation

The cyclooxygenase (COX) enzymes, COX-1 and COX-2, are critical in the biosynthesis of prostaglandins from arachidonic acid. The human COX-1 protein is constitutively expressed in most tissues and functions in the maintenance of tissue homeostasis. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are effective in decreasing the inflammatory response by blocking both COX enzymes. COX-2 is a 70 kD inducible enzyme that is responsible for prostaglandin synthesis at the site of inflammation.³ COX-2 expression has also been linked to carcinogenesis, and specific COX-2 inhibitors have been shown to have antitumor effects.^{4,5}

Expression of COX-2, as determined by immunohistochemistry, has been reported in a variety of normal and neoplastic tissues. Among neoplastic tissues, heterogeneous cytoplasmic expression of COX-2 was demonstrated in colorectal adenocarcinoma, while normal adjacent tissue showed weak staining, and normal colon was negative.^{6,7} COX-2 protein was found to be expressed in a subset of breast adenocarcinomas and adjacent ductal carcinoma in situ. Using RT-PCR, COX-2 mRNA from breast tumors exhibited an increase above mRNA expression in paired normal specimens.⁸ Increased COX-2 expression was observed in lung adenocarcinomas when compared to normal bronchial epithelial cell expression.^{9,10} A majority of esophageal squamous cell carcinomas and squamous adenocarcinomas demonstrated heterogeneous cytoplasmic COX-2 expression, whereas weak and no expression was found in normal esophageal squamous epithelium and Barrett's mucosa, respectively.¹¹ COX-2 protein expression has been detected in both normal neurons and astrocytic gliomas.¹² The majority of primary malignant melanomas were found to express COX-2, while benign nevi and adjacent normal epithelium were negative.¹³ COX-2 has also been demonstrated in: gastric adenocarcinoma,¹⁴ head and neck squamous cell carcinoma,¹⁵ pancreatic carcinoma,^{16,17} malignant pheochromocytoma,¹⁸ testicular cancer,¹⁹ and squamous cell carcinoma of the urinary bladder.²⁰ COX-2 was also demonstrated in subsets of: ovarian carcinoma,²¹ prostate carcinoma,²² invasive transitional cell carcinoma of the urinary bladder,²³ renal cell carcinoma,²⁴ and hepatocellular carcinoma.²⁵

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* 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.

Reagent provided

Monoclonal Mouse antibody provided in liquid form as tissue culture supernatant in 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 and 0.015 mol/L sodium azide. This product contains stabilizing protein.

Clone: CX-294^{1,2} Isotype: IgG₁, kappa
Mouse IgG concentration mg/L: See label on vial.

M3617 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

Synthetic peptide corresponding to human COX-2 amino acids 580-598^{1,2}

Specificity

Clone CX-294 is specific to the peptide used for immunization. In Western blotting and immunoprecipitation experiments CX-294 was shown to identify the inducible human COX-2 using IL-1 α or PMA stimulated human umbilical vein endothelial cells (HUVEC); peptide blocking of the antibody with the COX-2 immunogen eliminated all reactivity.^{1,2}

Materials required, but not supplied

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* and/or the detection system instructions. Required diluent(s) for IHC procedures:

Antibody Diluent (code S0809)

The following negative control is recommended for IHC procedures:

Mouse IgG₁ (code X0931)

Precautions

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-COX-2 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 or steamer (95-99 °C). Use a 20-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. 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 S2367 concentrated 10x) is recommended.

Cryostat Sections And Cell Smears

Anti-COX-2 can be used for labelling acetone-fixed cryostat sections or fixed cell smears.

Staining procedure

Follow the recommended procedure for the detection system selected.

Staining interpretation

The cellular staining pattern for anti-COX-2 is cytoplasmic.

Performance characteristics

Normal Tissues²⁶

Tissue Type (# tested)	Positively Staining Tissue Elements
Adrenal (3)	3/3 cytoplasm of adrenal cortical cells
Bone Marrow (3)	1/3 cytoplasm of granulocyte precursors
Brain, cerebellum (3)	0/3
Brain, cerebrum (3)	3/3 faint cytoplasmic staining of neurons
Breast (3)	3/3 cytoplasm of breast epithelial cells
Cervix (3)	0/3
Colon (2)	1/2 cytoplasm of rare glandular cells
Endometrium (3)	3/3 cytoplasm of endometrial glandular epithelial cells
Esophagus (3)	3/3 cytoplasm of skeletal muscle
Heart (3)	3/3 faint cytoplasmic staining of myocytes
Kidney (3)	3/3 cytoplasm of renal tubule cells 2/3 faint staining of glomerular mesangium 1/3 faint cytoplasmic staining of glomeruli
Liver (3)	3/3 cytoplasm of hepatocytes and bile duct epithelial cells 1/3 cytoplasm of Kupffer cells
Lung (3)	3/3 membrane and cytoplasm of the intra-alveolar membrane 2/3 cytoplasm of bronchial epithelial cells
Mesothelial Cells (3)	0/3
Nerve, peripheral (3)	0/3
Ovary (3)	1/3 cytoplasm of cells of inclusion cysts
Pancreas (3)	3/3 cytoplasm of acinar cells and ducts 2/3 cytoplasm of islet cells
Parathyroid (3)	3/3 cytoplasm of chief cells
Pituitary (3)	3/3 cytoplasm of pituicytes in adenohypophysis
Prostate (3)	3/3 cytoplasm and some membrane of prostatic glandular epithelial cells
Salivary Gland (3)	3/3 cytoplasm and some membrane of ductal epithelial cells 2/3 cytoplasm of acini
Skeletal Muscle (3)	1/3 cytoplasm of perimysium
Skin (3)	3/3 cytoplasm of sebaceous gland
Small Intestine (3)	0/3
Spleen (3)	0/3
Stomach (3)	3/3 cytoplasm of chief and parietal cells
Testis (3)	0/3
Thymus (3)	3/3 cytoplasm of epithelial cells

Thyroid (3)	1/3 cytoplasm of follicular epithelial cells
Tonsil (3)	0/3

FRANÇAIS

Réf. M3617

Utilisation prévue

Pour utilisation en diagnostic in vitro.

Cet anticorps est conçu pour être utilisé en laboratoire en vue de l'identification qualitative par microscopie optique des cellules exprimant la COX-2 dans les tissus sains et néoplasiques en utilisant des méthodes immunohistochimiques (IHC). L'interprétation clinique de tout marquage positif ou de toute absence doit être complétée par des études morphologiques et histologiques à l'aide de témoins appropriés. Les évaluations doivent être réalisées uniquement par un professionnel agréé dans le contexte de l'historique clinique du patient et d'autres examens.

Synonyme

Cyclooxygenase-2

Résumé et explications

Les enzymes de la cyclooxygénase (COX), COX-1 et COX-2, jouent un rôle crucial dans la biosynthèse des prostaglandines à partir de l'acide arachidonique. La protéine COX-1 humaine est exprimée de façon constitutive dans la plupart des tissus et participe à la conservation de l'homéostasie des tissus. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) permettent de réduire efficacement la réponse inflammatoire en bloquant les deux enzymes de la COX. La COX-2 est une enzyme inducible de 70 kD responsable de la synthèse des prostaglandines sur le site de l'inflammation.³ Son expression est également liée à la carcinogenèse et il a été démontré que des inhibiteurs spécifiques de la COX-2 avaient un effet antitumoral.^{4,5}

L'expression de la COX-2, telle que déterminée par immunohistochimie, a été notée dans divers tissus sains et néoplasiques. Parmi les tissus néoplasiques, l'expression cytoplasmique hétérogène de la COX-2 a été démontrée dans l'adénocarcinome colorectal, alors que le tissu adjacent sain présentait une coloration faible et que le côlon sain était négatif.^{6,7} Il s'avère que la protéine COX-2 est exprimée dans un sous-groupe d'adénocarcinomes du sein et dans les carcinomes canalaux in situ adjacents. En utilisant la RT-PCR, l'ARNm de la COX-2 provenant des tumeurs mammaires montrait une augmentation supérieure à l'expression de l'ARNm dans des échantillons normaux appariés.⁸ L'augmentation de l'expression de la COX-2 a été observée dans les adénocarcinomes pulmonaires lors de la comparaison avec l'expression de cellules épithéliales bronchiques normales.^{9,10} Une majorité de carcinomes œsophagiens à cellules squameuses et d'adénocarcinomes squameux ont présenté une expression cytoplasmique hétérogène de la COX-2, alors qu'une expression faible ou l'absence d'expression ont été observées dans l'épithélium squameux œsophagien sain et dans la muqueuse de Barrett, respectivement.¹¹ L'expression de la protéine COX-2 a été détectée à la fois dans les neurones sains et dans les gliomes astrocytaires.¹² La majorité des mélanomes malins primaires s'est révélé exprimer la COX-2, alors que les nævi bénins et l'épithélium sain adjacent étaient négatifs.¹³ La COX-2 a été également observée dans les cancers suivants : adénocarcinome gastrique,¹⁴ carcinome à cellules squameuses du cou et de la tête,¹⁵ carcinome pancréatique,^{16,17} phéochromocytome malin,¹⁸ cancer du testicule¹⁹ et carcinome à cellules squameuses de la vessie.²⁰ La COX-2 a par ailleurs été observée dans des sous-groupes de : carcinome de l'ovaire,²¹ carcinome prostatique,²² carcinome invasif à cellules transitionnelles de la vessie,²³ carcinome des cellules rénales²⁴ et carcinome hépatocellulaire.²⁵

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

Anticorps monoclonal de souris fourni sous forme liquide comme surnageant de culture tissulaire dans un tampon Tris-HCl à 0,05 mol/L, de pH 7,2, contenant de l'azide de sodium à 0,015 mol/L. Ce produit contient une protéine stabilisante.

Clone: CX-294^{1,2} Isotype: IgG₁, kappa

Concentration des IgG de souris en mg/l : Voir l'étiquette sur le flacon.

Le M3617 peut être utilisé à une dilution de 1:100 lors de la procédure IHC faisant appel au système de détection EnVision+™. 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

Peptide de synthèse correspondant aux acides aminés de la COX-2 humaine 580-598^{1,2}

Spécificité

Le clone CX-294 est spécifique du peptide utilisé pour l'immunisation. Dans les expériences faisant appel au Western blot et à l'immunoprécipitation, le CX-294 s'est révélé identifier la COX-2 humaine inducible en utilisant l'IL- α ou des cellules endothéliales de veines ombilicales humaines (HUVEC) stimulées par du PMA ; le blocage peptidique de l'anticorps avec l'immunogène de la COX-2 élimine en effet toute réactivité.^{1,2}

Matériels requis mais non fournis

Se référer aux *Instructions Générales relatives à la procédure de Marquage Immunohistochimique* et/ou aux instructions du système de détection. Diluant recommandé pour les procédures IHC :

Antibody Diluent (Diluant d'anticorps) (réf. S0809)

Le contrôle négatif suivant est recommandé pour les procédures IHC :

Mouse IgG₁ (IgG₁ de souris) (réf. X0931)

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique dans 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

Conserver entre 2 et 8 °C. 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.

Préparation des échantillons

Coupes en paraffine

L'anti-COX-2 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.

Les coupes de tissus déparaffinées doivent être traitées à la chaleur avant de démarrer 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 chaleur dans un bain-marie ou un incubateur (95-99 °C). Laisser 20 minutes de démasquage au bain-marie à une température comprise 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 déionisée. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des Silanized Slides (lames silanisées) (réf. S3003). La Target Retrieval Solution (Solution de restauration des cibles) de pH 9,0 (réf. S2367 concentrée 10x) est recommandée.

Coupes cryostat et frottis cellulaires

L'anti-COX-2 peut être utilisé pour des coupes cryostat fixées à l'acétone ou des frottis cellulaires fixés.

Procédure de coloration

Suivre la procédure recommandée pour le système de détection sélectionné.

Interprétation de la coloration

La localisation du marquage avec l'anti-COX-2 est cytoplasmique.

Caractéristiques de performance

Tissus sains²⁶

Type de tissus (nbre testé)	Éléments de tissus colorés positivement
Surrénale (3)	3/3 cytoplasme de cellules corticosurrénales
Moelle osseuse (3)	1/3 cytoplasme de précurseurs granulocytaires
Cerveau, cervelet (3)	0/3
Cerveau, cerebrum (3)	3/3 coloration cytoplasmique faible de neurones
Sein (3)	3/3 cytoplasme de cellules épithéliales mammaires
Col de l'utérus (3)	0/3
Côlon (2)	1/2 cytoplasme de cellules glandulaires rares
Endomètre (3)	3/3 cytoplasme de cellules épithéliales glandulaires endométriales
Œsophage (3)	3/3 cytoplasme de muscle squelettique
Cœur (3)	3/3 coloration cytoplasmique faible de myocytes
Rein (3)	3/3 cytoplasme de cellules tubulaires rénales 2/3 coloration faible de mésangium glomérulaire 1/3 coloration cytoplasmique faible de glomérules
Foie (3)	3/3 cytoplasme d'hépatocytes et de cellules épithéliales du canal biliaire 1/3 cytoplasme de cellules de Kupffer
Poumon (3)	3/3 membrane et cytoplasme de la membrane intra-alvéolaire 2/3 cytoplasme de cellules épithéliales bronchiques
Cellules mésothéliales (3)	0/3
Nerf périphérique (3)	0/3
Ovaire (3)	1/3 cytoplasme de cellules de kystes d'inclusion
Pancréas (3)	3/3 cytoplasme de cellules et canaux acinaires 2/3 cytoplasme d'îlots de Langerhans
Parathyroïde (3)	3/3 cytoplasme de cellules principales
Hypophyse (3)	3/3 cytoplasme de pituicytes de l'adénohypophyse
Prostate (3)	3/3 cytoplasme et certaines membranes de cellules épithéliales glandulaires prostatiques

Glande salivaire (3)	3/3 cytoplasme et certaines membranes de cellules épithéliales canalaire
	2/3 cytoplasme d'acini
Muscle squelettique (3)	1/3 cytoplasme de pérmysium
Peau (3)	3/3 cytoplasme de glande sébacée
Intestin grêle (3)	0/3
Rate (3)	0/3
Estomac (3)	3/3 cytoplasme de cellules principales et pariétales
Testicule (3)	0/3
Thymus (3)	3/3 cytoplasme de cellules épithéliales
Thyroïde (3)	1/3 cytoplasme de cellules épithéliales folliculaires
Amygdale (3)	0/3

DEUTSCH

Code M3617

Verwendungszweck

Zur In-vitro Diagnostik.

Dieser Antikörper dient Laborzwecken, um mit Lichtmikroskopie anhand immunohistochemischer (IHC) Testmethoden COX-2 exprimierende Zellen in normalem und neoplastischem Gewebe qualitativ nachzuweisen. Die klinische Bewertung einer vorhandenen oder fehlenden positiven Färbung sollte durch morphologische und histologische Studien mit entsprechenden Kontrollen ergänzt werden. Die Interpretation muss unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren durch einen erfahrenen Pathologen erfolgen.

Synonym

Cyclooxygenase-2

Zusammenfassung und Erklärung

Die Cyclooxygenase (COX)-Enzyme COX-1 und COX-2 sind bei der Biosynthese von Prostaglandinen der Arachidonsäure von großer Bedeutung. Humanes COX-1-Protein wird in den meisten Geweben und Funktionen zur Erhaltung der Homöostase des Gewebes exprimiert. Nicht-steroidale Antirheumatika (NSAIDs) verringern die Entzündungsreaktion, indem sie beide COX-Enzyme blockieren. COX-2 ist ein 70 kD induzierbares Enzym, das für die Prostaglandinsynthese an der Entzündungsstelle verantwortlich ist.³ COX-2-Expression steht auch in Verbindung mit Karzinogenese und spezifische COX-2-Inhibitoren wiesen Antitumor-Effekte auf.^{4,5}

Die COX-2-Expression, wie sie immunohistochemisch bestimmt wird, wurde bei verschiedenen normalen und neoplastischen Geweben beschrieben. Bei den neoplastischen Geweben wurde in kolorektalen Adenokarzinomen eine heterogene zytoplasmische Expression von COX-2 nachgewiesen, während das normale angrenzende Gewebe eine schwache, und normales Gewebe des Darms keine Färbung aufwies.^{6,7} Es wurden Expressionen des COX-2-Proteins in einigen Brust-Adenokarzinomen und angrenzenden Duktalkarzinomen in situ gefunden. Mit RT-PCR wies COX-2 mRNA von Brusttumoren einen Anstieg über die mRNA-Expression in gepaarten normalen Proben auf.⁸ Eine erhöhte COX-2-Expression wurde in Lungenadenokarzinomen im Vergleich zur Expression normaler Bronchialepithelzellen beobachtet.^{9,10} Die meisten Ösophagus-Plattenepithelzellkarzinome und squamösen Adenokarzinome wiesen eine heterogene zytoplasmische COX-2-Expression auf, während normale Ösophagus-Plattenepithelzellen und Barrett-Mukosa eine schwache oder keine Expression aufwiesen.¹¹ Eine COX-2-Proteinexpression wurde sowohl in normalen Neuronen als auch in Astrozyten nachgewiesen.¹² Die meisten primär malignen Melanome wiesen eine COX-2-Expression auf, während benigne Naevi und das umliegende normale Epithelgewebe negativ waren.¹³ COX-2 wurde ebenfalls in folgenden Konditionen nachgewiesen: Adenokarzinom des Magens,¹⁴ Plattenepithelzellkarzinom des Kopfs und Nackens,¹⁵ Pankreaskarzinom,^{16,17} malignes Phäochromozytom,¹⁸ Hodenkrebs¹⁹ und Plattenepithelzellkarzinom der Blase.²⁰ COX-2 wurde ebenfalls in einem Teil der Tumoren nachgewiesen: Ovarialkarzinom,²¹ Prostatakarzinom,²² invasives Transitionalzellkarzinom der Blase,²³ Nierenkarzinom²⁴ und Leberzellkarzinom.²⁵

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunohistochemischen Färbung* von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzipien, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlerbehebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Mitgelieferte Reagenzien

Monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form als Gewebekulturüberstand in 0,05 mol/L Tris-HCl-Puffer, pH 7,2 und 0,015 mol/L Natriumazid. Dieses Produkt enthält ein Stabilisatorprotein.

Klon: CX-294^{1,2} Isotyp : IgG₁, kappa
Konzentration Maus-IgG mg/l: Siehe Fläschchenetikett.

M3617 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:

Synthetisches Peptid, entsprechend der Human-COX-2 Aminosäuren 580-598^{1,2}

Spezifität

Klon CX-294 ist spezifisch für das zur Immunisierung verwendete Peptid. In Experimenten mit der Western-Blot-Technik und der Immunopräzipitation wurde gezeigt, dass CX-294 das induzierbare humane COX-2 mit IL-1 α oder PMA stimulierten humanen Endothelzellen der Umbilikalvene identifiziert; Peptid-Blocking des Antikörpers mit dem COX-2 Immunogen eliminierte alle Reaktivität.^{1,2}

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

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

Antibody Diluent (Code S0809)

Die folgende Negativkontrolle wird für IHC-Verfahren empfohlen:

Mouse IgG₁ (Code X0931)

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 Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Aufbewahrung

Bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft 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-COX-2 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 Hitze behandelt werden. Zur hitzeinduzierten Epitopdemaskierung (heat-induced epitope retrieval, HIER) gehört ein Eintauchen der Gewebeschnitte in eine vorgewärmte Pufferlösung und Wärmeerhaltung in einem Wasser- oder Dampfbad (95–99 °C). Für die bei 95–99 °C durchgeführte HIER ein 20-minütiges Hitzeprotokoll verwenden; das Gefäß mit Puffer und Objektträgern nach der Hitzebehandlung 20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen. Gründlich mit Puffer oder entionisiertem Wasser spülen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträger wird die Verwendung von Silanized Slides (Code S3003) empfohlen. Außerdem wird Target Retrieval Solution pH 9,0 (Code S2367 10-fach konzentriert) empfohlen.

Gefrierschnitte und Zellausstriche

Anti-COX-2 kann zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten und Zellausstrichen verwendet werden.

Färbeverfahren

Das empfohlene Verfahren des ausgewählten Detektionssystems befolgen.

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster für Anti-COX-2 ist zytoplasmatisch.

Leistungsmerkmale

Normales Gewebe²⁶

Gewebetyp (Anz. getestet)	Gewebeelemente mit positiver Färbung
Adrenal (3)	3/3 Zytoplasma der Nebennierenrindenzellen
Knochenmark (3)	1/3 Zytoplasma der Granulozyten-Vorläufer
Gehirn, Zerebellum (3)	0/3
Gehirn, Zerebellum (3)	3/3 schwache zytoplasmatische Färbung von Neuronen
Brust (3)	3/3 Zytoplasma der Brustepithelzellen
Zervix (3)	0/3
Darm (2)	1/2 Zytoplasma seltener Glandulazellen
Endometrium (3)	3/3 Zytoplasma der endometrialen glandulären Epithelzellen
Ösophagus (3)	3/3 Zytoplasma der skelettalen Muskeln
Herz (3)	3/3 schwache zytoplasmatische Färbung von Myozyten
Niere (3)	3/3 Zytoplasma der Nierentubuli 2/3 schwache Färbung des glomerulären Mesangiums 1/3 schwache zytoplasmatische Färbung von Glomeruli
Leber (3)	3/3 Zytoplasma der Hepatozyten und Epithelzellen des Gallengangs 1/3 Zytoplasma der Kupffer-Zellen
Lunge (3)	3/3 Membran und Zytoplasma der intra-alveolaren Membran 2/3 Zytoplasma der Bronchialepithelzellen
Mesothelzellen (3)	0/3
Nerv, peripher (3)	0/3

Eierstock (3)	1/3 Zytoplasma von Einschlusszystenzellen
Pankreas (3)	3/3 Zytoplasma von Azinuszellen und Gängen 3/3 Zytoplasma von Inselzellen
Nebenschilddrüse (3)	3/3 Zytoplasma von Hauptzellen
Hypophyse (3)	3/3 Zytoplasma von Pituizyten in Adenohypophyse
Prostata (3)	3/3 Zytoplasma und ein Teil der Membrane von glandulären Epithelzellen der Prostata
Speicheldrüse (3)	3/3 Zytoplasma und ein Teil der Membrane von duktalem Epithelzellen 2/3 Zytoplasma von Azinuszellen
Skelettmuskel (3)	1/3 Zytoplasma des Perimysiums
Haut (3)	3/3 Zytoplasma der Talgdrüsen
Dünndarm (3)	0/3
Milz (3)	0/3
Magen (3)	3/3 Zytoplasma von Haupt- und Parietalzellen
Hoden (3)	0/3
Thymus (3)	3/3 Zytoplasma von Epithelzellen
Schilddrüse (3)	1/3 Zytoplasma von Follikel Epithelzellen
Mandeln (3)	0/3





References

Bibliographie

Literatur

- Creminon C, Habib A, Maclouf J, Pradelles P, Grassi J, Frobert Y. Differential measurement of constitutive (COX-1) and inducible (COX-2) cyclooxygenase expression in human umbilical vein endothelial cells using specific immunometric enzyme immunoassays. *Biochim Biophys Acta* 1995;1254(3):341-8
- Habib A, Creminon C, Frobert Y, Grassi J, Pradelles P, Maclouf J. Demonstration of an inducible cyclooxygenase in human endothelial cells using antibodies raised against the carboxyl-terminal region of the cyclooxygenase-2. *J Biol Chem* 1993;268(31):23448-54
- Hla T, Neilson K. Human cyclooxygenase-2 cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89(16):7384-8
- Stratton MS, Alberts DS. Current application of selective COX-2 inhibitors in cancer prevention and treatment. *Oncology (Williston Park)*. 2002;16(5 Suppl 4):37-51
- Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, Zweifel BS, Settle SL, Woerner BM, Edwards DA, Flickinger AG, Moore RJ, Seibert K. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res* 2000;60(5):1306-11
- Sano H, Kawahito Y, Wilder RL, Hashiramoto A, Mukai S, Asai K, Kimura S, Kato H, Kondo M, Hla T. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer. *Cancer Res* 1995;55(17):3785-9
- Sheehan KM, Sheahan K, O'Donoghue DP, MacSweeney F, Conroy RM, Fitzgerald DJ, Murray FE. The relationship between cyclooxygenase-2 expression and colorectal cancer. *JAMA* 1999;282(13):1254-7
- Half E, Tang XM, Gwyn K, Sahin A, Wathen K, Sinicrope FA. Cyclooxygenase-2 expression in human breast cancers and adjacent ductal carcinoma in situ. *Cancer Res* 2002;62(6):1676-81
- Achiwa H, Yatabe Y, Hida T, Kuroishi T, Kozaki K, Nakamura S, Ogawa M, Sugiura T, Mitsudomi T, Takahashi T. Prognostic significance of elevated cyclooxygenase 2 expression in primary, resected lung adenocarcinomas. *Clin Cancer Res* 1999 May;5(5):1001-5
- Hosomi Y, Yokose T, Hirose Y, Nakajima R, Nagai K, Nishiwaki Y, Ochiai A. Increased cyclooxygenase 2 (COX-2) expression occurs frequently in precursor lesions of human adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer* 2000 Nov;30(2):73-81
- Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabbert HE, Schror K. Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res* 1999;59(1):198-204
- Shono T, Tofilon PJ, Bruner JM, Owolabi O, Lang FF. Cyclooxygenase-2 expression in human gliomas: prognostic significance and molecular correlations. *Cancer Res* 2001;61(11):4375-81
- Denkert C, Kobel M, Berger S, Siegert A, Leclere A, Trefzer U, Hauptmann S. Expression of cyclooxygenase 2 in human malignant melanoma. *Cancer Res* 2001;61(1):303-8
- Lim HY, Joo HJ, Choi JH, Yi JW, Yang MS, Cho DY, Kim HS, Nam DK, Lee KB, Kim HC. Increased expression of cyclooxygenase-2 protein in human gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000;6(2):519-25
- Chan G, Boyle JO, Yang EK, Zhang F, Sacks PG, Shah JP, Edelstein D, Soslow RA, Koki AT, Woerner BM, Masferrer JL, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Res* 1999;59(5):991-4
- Okami J, Yamamoto H, Fujiwara Y, Tsujie M, Kondo M, Noura S, Oshima S, Nagano H, Dono K, Umeshita K, Ishikawa O, Sakon M, Matsuura N, Nakamori S, Monden M. Overexpression of cyclooxygenase-2 in carcinoma of the pancreas. *Clin Cancer Res* 1999;5(8):2018-24
- Tucker ON, Dannenberg AJ, Yang EK, Zhang F, Teng L, Daly JM, Soslow RA, Masferrer JL, Woerner BM, Koki AT, Fahey TJ 3rd. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer. *Cancer Res* 1999;59(5):987-90
- Salmenkivi K, Haglund C, Ristimäki A, Arola J, Heikkilä P. Increased expression of cyclooxygenase-2 in malignant pheochromocytomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86(11):5615-9
- Hase T, Yoshimura R, Matsuyama M, Kawahito Y, Wada S, Tsuchida K, Sano H, Nakatani T. Cyclooxygenase-1 and -2 in human testicular tumours. *Eur J Cancer* 2003;39(14):2043-9
- Shirahama T, Sakakura C. Overexpression of cyclooxygenase-2 in squamous cell carcinoma of the urinary bladder. *Clin Cancer Res* 2001;7(3):558-61
- Denkert C, Kobel M, Pest S, Koch I, Berger S, Schwabe M, Siegert A, Reles A, Klosterhalfen B, Hauptmann S. Expression of cyclooxygenase 2 is an independent prognostic factor in human ovarian carcinoma. *Am J Pathol* 2002;160(3):893-903
- Kirschenbaum A, Klausner AP, Lee R, Unger P, Yao S, Liu XH, Levine AC. Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the human prostate. *Urology* 2000;56(4):671-6
- Mohammed SI, Knapp DW, Bostwick DG, Foster RS, Khan KN, Masferrer JL, Woerner BM, Snyder PW, Koki AT. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in human invasive transitional cell carcinoma (TCC) of the urinary bladder. *Cancer Res* 1999;59(22):5647-50

24. Miyata Y, Koga S, Kanda S, Nishikido M, Hayashi T, Kanetake H. Expression of cyclooxygenase-2 in renal cell carcinoma: correlation with tumor cell proliferation, apoptosis, angiogenesis, expression of matrix metalloproteinase-2, and survival. Clin Cancer Res 2003;9(5):1741-9
25. Bae SH, Jung ES, Park YM, Kim BS, Kim BK, Kim DG, Ryu WS. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) in hepatocellular carcinoma and growth inhibition of hepatoma cell lines by a COX-2 inhibitor, NS-398. Clin Cancer Res 2001;7(5):1410-8
26. IHC003 Report On File

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

Edition 06/07