

**Monoclonal Mouse
Anti-Human IMP3
Clone 69.1**

Kód M3626

Použití	<p>K diagnostice in vitro.</p> <p>Protilátka Monoclonal Mouse Anti-Human IMP3, Clone 69.1 je určena pro použití v imunohistochemii. Protilátka je užitečnou pomůckou při identifikaci buněk exprimujících IMP3 v normálních a neoplastických tkáních. Klinikou interpretaci jakéhokoli zbarvení nebo jeho nepřítomnosti se musí doplnit morfologickými studii s využitím správných kontrol a je nutno ji vyhodnocovat v kontextu klinické anamnézy pacienta a jiných diagnostických vyšetření provedených kvalifikovaným patologem.</p>
Synonyma antigenu	KOC (doména K-homologie obsahující protein nadměrně exprimovaný v rakovině), L523S, IGF2BP3
Souhrn a vysvětlení	<p>IMP3 (inzulínu podobný růstový faktor II navázaný na mRNA protein 3) je onkofetální RNA vázající protein z 580 aminokyselin obsahující čtyři domény K-homologie, který je kódovaný transkripcí mRNA 4350 produkovaný genem <i>IGF2BP3</i> na chromozomu 7p11.5 (1, 2). Tento protein o molekulové hmotnosti 65 až 70 kD reguluje transkripce inzulínu podobného růstového faktoru II (IGF-II) během embryogeneze a je později reexprimován v části neoplastických buněk z různých typů nádorů včetně skvamózních buněk karcinomu plic a adenokarcinomu plic a slinivky břišní (3-6). IMP3 byl původně identifikován během analýzy různě exprimovaných genů, která porovnávala rakovinu slinivky břišní s normální slinivkou (1). Následně byl IMP3 izolován pomocí subtrakce knihovny cDNA a technologie mikroarray, jako exprimovaný zejména v rakovině plic v porovnání s normálními plicemi (7). Transkripce IMP3 byly rovněž detekovány v punkcích tenkou jehlou u pacientů s diagnózou kolorektálního karcinomu a karcinomu slinivky břišní (8). Minimální exprese mRNA byla nalezena v mnoha normálních tkáních za použití rtPCR a analýzy mikroarray (5). Bylo zjištěno, že subset rakovin exprimuje protein IMP3, včetně melanomu, mezoteliomu a karcinomu močového měchýře, děložního hrdla, kolorekta, jícnu, jater, plic, slinivky břišní, žaludku a dělohy (9-19).</p> <p>V kapitolách <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení)</i> společnosti Dako nebo v návodu k detekčnímu systému pro IHC metody naleznete tyto části: 1) Princip metody, 2) Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky, 3) Skladování, 4) Příprava vzorku, 5) Postup barvení, 6) Kontrola kvality, 7) Řešení problémů, 8) Interpretace zbarvení, 9) Obecná omezení.</p>
Dodávaná činidla	<p>Monoklonální myši protilátka se dodává v kapalné podobě jako supernatant buněčných kultur (obsahuje fetální bovinní sérum) dialyzovaná proti 0,02 mol/L PBS, pH 6,0 a s obsahem 0,015 mol/L azidu sodného. Tento produkt obsahuje stabilizující protein.</p> <p><u>Klon:</u> 69.1(4). <u>Izotyp:</u> IgG2a, kappa.</p> <p><u>Koncentrace myši IgG v mg/L:</u> Viz štítek na lahvičce.</p> <p>Proteinová koncentrace mezi šaržemi se může lišit bez ohledu na optimální ředění. Titr každé konkrétní šarže je upraven, aby byla zajištěna srovnatelná účinnost imunohistologického zbarvení v rámci jednotlivých šarží.</p>
Imunogen	Rekombinantní purifikovaný protein kódovaný aminokyselinami 2-580 (4).
Specifická	Interní studie prokázaly metodou Western blots s buněčným lyzátem A549 lidského karcinomu plic za použití anti-IMP3 pruh o velikosti 70 kD, který odpovídá indikované molekulové hmotnosti proteinu IMP3 (1, 5). Byl rovněž identifikován slabý pruh s menší molekulovou hmotností 48 kD. Za účelem zjištění imunoreaktivity s rekombinantním proteinem IMP3 byla též testována monoklonální myši anti-IMP3 metodou ELISA.
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">1. Určeno pro profesionální uživatele.2. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN_3), který je v čisté formě vysoce toxický. Přestože se koncentrace azidu sodného ve výrobku neklasifikuje jako nebezpečná, 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.3. Jako u každého výrobku biologického původu je nutno dodržovat řádná bezpečnostní opatření.4. Používejte odpovídající osobní ochranné prostředky, aby nedošlo k zasažení očí nebo pokožky.5. Nespotřebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.
Skladování	Składujte při 2–8 °C. Nepoužívejte po datu expirace vytištěném na lahvičce. Pokud se činidla skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Neexistují žádné známky toho, že by tyto produkty byly nestabilní. Proto je nutno provádět pozitivní a negativní kontroly současně s pacientovými vzorky. 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.

Příprava vzorku včetně potřebných materiálů, které nejsou součástí dodávky

Parafinové řezy:

Protilátku lze používat ke značení řezů tkání zalitých v parafínu a fixovaných ve formalínu. Předchozí zpracování tkání proteolytickými enzymy se nedoporučuje.

Deparafinované řezy musí být před IHC barvením zahřáty. Při tepelně indukovaném vyhledávání epitopu (HIER) se řezy tkáně ponořují do předehřátého pufového roztoku a ve vodní lázni se udržuje teplota (95–99 °C). Používají-li se pro HIER jiné než doporučené zdroje tepla, je třeba jejich účinnost ověřit. Pro test HIER prováděný při teplotě 95 – 99 °C použijte 40 minutový protokol ohřevu; po tepelném zpracování nechejte nádobu s puforem a skly chladnout 20 minut při pokojové teplotě. Po testu HIER důkladně vypláchněte puforem nebo deionizovanou vodou. Doporučuje se používat Target Retrieval Solution pH 9 (kód S2368) nebo 10x Concentrate (kód S2367).

Tkáňové řezy nesmí během zpracování nebo během následného imunohistochemického barvení vyschnout. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat silanizovaná podložní skla Dako Silanized Slides (kód S3003).

Zmrazené řezy a buněčné nátěry:

Protilátku lze používat ke značení zmrazených řezů fixovaných v acetonu a buněčných nátěrů.

Postup barvení včetně potřebných materiálů, které nejsou součástí dodávky

Ředění: Protilátku Monoclonal Mouse Anti-Human IMP3, kód M3626 lze ředit v ředicím poměru 1:100 při použití na řezech předem zpracovaných, fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu při inkubování v délce 30 minut při pokojové teplotě. Doporučuje se protilátku ředit roztokem Dako Antibody Diluent s komponenty Background-Reducing Components, kód S3022. Toto jsou pouze obecné pokyny. Optimální podmínky se mohou lišit v závislosti na vzorku a způsobu přípravy a měly by být v každé laboratoři stanovovány samostatně. Doporučené činidlo pro negativní kontrolu je Dako Negative Control, Mouse IgG2a (kód X0943), zředěné na stejnou koncentraci myší IgG jako primární protilátka. Pokud nebyla stanovena stabilita naředěné protilátky a negativní kontroly v stávajícím postupu barvení, doporučuje se naředit tato činidla bezprostředně před použitím. Pozitivní a negativní kontroly je třeba provádět současně s pacientovými vzorky.

Vizualizace: Doporučuje se Dako EnVision™+ System/HRP, Dual Link Rabbit/Mouse (kód K4061), Dako EnVision™+ System/HRP, Mouse (kódy K4000/K4001/K4006/K4007). Dodržujte postup přiložený ke zvolenému vizualizačnímu systému.

Automatizace: Protilátka je vhodná pro imunohistochemické barvení pomocí automatických přístrojů, například na barvicích automatech Dako Autostainer, Autostainer Plus a Autostainer Link.

Interpretace zabarvení

Buněčný obrazec po obarvení pro anti-IMP3 je převážně cytoplazmatický, s ojedinělým nukleárním a membránovým zabarvením (4,20).

Charakteristiky účinnosti

Normální tkáně (20):

Anti-IMP3 barví imunologicky řadu typů normálních buněk, přičemž intenzita zabarvení většiny typů pozitivních buněk je převážně nízká. Intenzivní imunologické zabarvení bylo pozorováno v oocytech vaječnicku, glandulárním epitelu žaludku a skvamózním epitelu a v buňkách zárodečného centra tonzily. (20)

Typ tkáně (testovaný počet)	Positivně zabarvené prvky tkání
Nadledvina (3)	3/3 kortikální buňky nadledviny (< 5 - 50 %), cytoplazmatické
Prs (3)	3/3 duktální a lobulární epiteliální buňky (< 5 - 20 %), cytoplazmatické
Kostní dřevina (3)	0/3
Mozek/malý mozek (3)	3/3 granulární vrstvy buněk (100 %), cytoplazmatické
Mozek/velký mozek (3)	0/3
Děložní hrdlo (3)	1/3 endocervikální buňky (100%), cytoplazmatické
Tračník (3)	3/3 glandulární epiteliální buňky (70 %), cytoplazmatické
Jícen (3)	1/3 skvamózní buňky sliznice (< 5 %), cytoplazmatické
Srdce (3)	0/3
Ledvina (3)	0/3
Játra (3)	0/3
Plic (3)	3/3 bronchiální epiteliální buňky (90 %), cytoplazmatické
Nerv (3)	0/3
Vaječník (3)	2/3 oocyty (100 %), cytoplazmatické a nukleární; 1/3 granulární buňky (100 %), cytoplazmatické
Slinivka břišní (3)	3/3 ostrůvkové buňky 2/3 (100 %), cytoplazmatické a membránové; 1/3 jaderka (30 %), cytoplazmatické
Příštitná tělíska (3)	0/3
Osrdčnickové mezoteliální buňky (2)	2/2 (100 %), cytoplazmatické
Hypofýza (3)	3/3 pituicyty (20 - 60 %), cytoplazmatické
Prostata (3)	0/3
Slinivá žláza (3)	0/3
Kosterní sval (3)	0/3









Kůže (3)	1/3 epitelální buňky vlasových folikulů (40 %), cytoplazmatické
Tenké střevo (3)	0/3
Slezina (3)	0/3
Žaludek (3)	3/3 glandulární epitelální buňky (< 10 - 30 %), cytoplazmatické
Varlata (3)	3/3 spermatogonie (50 %), Sertoliho buňky (90 %), cytoplazmatické a nukleární
Brzlík (3)	3/3 epitelální buňky brzlíku (100 %), cytoplazmatické
Štítná žláza (3)	0/3
Mandle (3)	3/3 buňky zárodečného centra (70 %), skvamózní epitelální buňky (30 %), cytoplazmatické
Děloha (3)	2/3 endometriální buňky (< 5 - 60 %), cytoplazmatické

Abnormální tkáně (4, 9 -19):

Typ tkáně (testovaný počet)	Pozitivně zbarvené nádory
Anální karcinom (10)	2/10
Karcinom močového měchýře (115)	58/115
Karcinom prsu (26)	2/26
Cervikální karcinom (9)	5/9
Cholangiokarcinom (4)	3/4
Kolorektální karcinom (37)	18/37
Karcinom jícnu (14)	10/14
Endometriální karcinom (174)	77/174
Karcinom jater (395)	259/395
Karcinom plic (30)	22/30
Melanom (27)	23/27
Mesotheliom (11)	10/11
Neuroendokrinní karcinom, extrapulmonární (53)	47/53
Neuroendokrinní karcinom, pulmonární (14)	14/14
Karcinom slinivky břišní (98)	91/98
Karcinom přštítného tělíska (3)	0/3
Karcinom renálních buněk (24)	3/24
Karcinom slinné žlázy (10)	0/10
Karcinom žaludku (25)	15/25
Karcinom štítné žlázy (24)	4/24
Cervikální karcinom dělohy (44)	41/44

Reference

- Mueller-Pillasch F, Lacher U, Wallrapp C, Micha A, Zimmerhackl F, Hameister H, Varga G, Friess H, Buchler M, Beger HG, Vila MR, Adler G, Gress TM. Cloning of a gene highly overexpressed in cancer coding for a novel KH-domain containing protein. *Oncogene* 1997;14(22):2729–33
- Nielsen J, Christiansen J, Lykke-Andersen J, Johnsen AH, Wewer UM, Nielsen FC. A family of insulin-like growth factor II mRNA-binding proteins represses translation in late development. *Mol Cell Biol* 1999;19(2):1262–70
- Mueller-Pillasch F, Pohl B, Wilda M, Lacher U, Beil M, Wallrapp C, Hameister H, Knochel W, Adler G, Gress TM. Expression of the highly conserved RNA binding protein KOC in embryogenesis. *Mech Dev* 1999;88(1):95–9
- Yantiss RK, Woda BA, Fanger GR, Kalos M, Whalen GF, Tada H, Andersen DK, Rock KL, Dresser K. KOC (K homology domain containing protein overexpressed in cancer): a novel molecular marker that distinguishes between benign and malignant lesions of the pancreas. *Am J Surg Pathol* 2005;29(2):188–95
- Wang T, Fan L, Watanabe Y, McNeill PD, Moulton GG, Bangur C, Fanger GR, Okada M, Inoue Y, Persing DH, Reed SG. L523S, an RNA-binding protein as a potential therapeutic target for lung cancer. *Br J Cancer* 2003;88(6):887–94
- Monk D, Bentley L, Beechey C, Hitchins M, Peters J, Preece MA, Stanier P, Moore GE. Characterisation of the growth regulating gene IMP3, a candidate for Silver-Russell syndrome. *J Med Genet* 2002;39(8):575–81
- Wang T, Hopkins D, Schmidt C, Silva S, Houghton R, Takita H, Repasky E, Reed SG. Identification of genes differentially over-expressed in lung squamous cell carcinoma using combination of cDNA subtraction and microarray analysis. *Oncogene* 2000;19(12):1519–28
- Mueller F, Bommer M, Lacher U, Ruhland C, Stagge V, Adler G, Gress TM, Seufferlein T. KOC is a novel molecular indicator of malignancy. *Br J Cancer* 2003;88(5):699–701
- Istvanic S, Fanger GR, Fraire AE, Khan A, Li C, Yantiss, RK. Spectrum of KOC (K Homology Domain Containing Protein Over-Expressed in Cancer) immunostaining among carcinomas of different sites. *Mod Pathol* 2005;18(S1):298A–9A
- Pryor JG, Bourne PA, Yang O, Spaulding BO, Scott GA, Xu H. IMP-3 is a novel progression marker in malignant melanoma. *Mod Pathol* 2008;21(4):431-7.
- Hanley KZ, Facik MS, Bourne PA, Yang O, Spaulding BO, Bonfiglio TA, Xu H. Utility of anti-L523S antibody in the diagnosis of benign and malignant serous effusions. *Cancer* 2008;114(1):49-56.
- Jeng YM, Chang CC, Hu FC, Chou HY, Kao HL, Wang TH, Hsu HC. RNA-binding protein insulin-like growth factor II mRNA-binding protein 3 expression promotes tumor invasion and predicts early recurrence and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008;48(4):1118-27.
- Zheng W, Yi X, Fadare O, Liang SX, Martel M, Schwartz PE, Jiang Z. The oncofetal protein IMP3: a novel biomarker for endometrial serous carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2008;32(2):304-15.
- Li C, Rock KL, Woda BA, Jiang Z, Fraire AE, Dresser K. IMP3 is a novel biomarker for adenocarcinoma *in situ* of the uterine cervix: an immunohistochemical study in comparison with p16^{INK4a} expression. *Mod Pathol* 2007;20:242-7.
- Li L, Xu H, Spaulding BO, Cheng L, Simon R, Yao JL, di Sant'Agnese PA, Bourne PA, Huang J. Expression of RNA-binding protein IMP3 (KOC) in benign urothelium and urothelial tumors. *Hum Pathol* 2008;39(8):1205-11.
- Ligato S, Zhao J, Mandich D, Cartun RW. KOC (K homology domain containing protein overexpressed in cancer) and S100A4-protein immunoreactivity improves the diagnostic sensitivity of biliary brushing cytology for diagnosing pancreaticobiliary malignancies. *Diagn Cytopathol* 2008;36(8):561-7.
- Xu H, Bourne PA, Spaulding BO, Wang HL. High-grade neuroendocrine carcinomas of the lung express K homology domain containing protein overexpressed in cancer but carcinoid tumors do not. *Human Pathol* 2007;38:555-63.
- Zhao H, Mandich D, Cartun RW, Ligato S. Expression of K homology domain containing protein overexpressed in cancer in pancreatic FNA for diagnosing adenocarcinoma of pancreas. *Diagn Cytopathol* 2007;35(11):700-4.
- Simon R, Bourne PA, Yang Q, Spaulding BO, di Sant'Agnese PA, Wang HL, Xu H. Extrapulmonary small cell carcinomas express K homology domain containing protein overexpressed in cancer, but carcinoid tumors do not. *Human Pathol* 2007;38:1178-83.
- IHC003 Report On File

 REF	Katalogové číslo	 Toplotní rozmezí od do	 Viz Návod k použití
 Výrobce	 LOT	Číslo šarže	 Použitelné do
 EC REP	Zplnomocněný zástupce		 IVD
			In vitro diagnostický zdravotnický prostředek

PT0039/Rev C


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

Vydání 12/08