

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Mammaglobin
Clone 304-1A5
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

Kód GA074

Použití	<p>Pro diagnostiku in vitro.</p> <p>FLEX Monoklonální myší antihumánní mammaglobin, klon 304-1A5, připravený k použití (Dako Omnis), je určen pro použití v imunohistochemii, společně s přístrojem Dako Omnis. Tato protilátka značí buňky exprimující Mammaglobin ve tkáních fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Diferenční klasifikaci nádorů 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 nádoru provedené konvenční histopatologií za použití neimunologických histochemických zbarvení.</p>
Synonyma antigenu	MGA, MGB1
Souhrn a vysvětlení	<p>Mammaglobin je protein 93 aminokyselin s homologií na další členy rodiny sekretoglobinů a uteroglobinů, který byl nejdříve identifikován ve studiích různě expimovaných cDNA z buněčných linií karcinomu prsu (2). V normální tkáni je mammaglobin exprimován pouze v prsní tkáni a tkánikůže (3). Expresse mammaglobinu byla též hlášena v sériích maligních a nemaligních tkání odvozených z ženských rodidel pomocí metody RT-PCR (4). Expresse genu mammaglobin a proteinu byla prokázána v neoplastických tkáních prsu a v subsetu normálních epitelálních buněk prsu uvnitř acinů lobulů typu I a typu II a uvnitř cylindrických buněk terminálních kanálků (1). Expresse mammaglobinu byla pomocí IHC prokázána v dobře, středně i špatně diferencovaných invazivních duktálních karcinomech a pomocí metody RT-PCR v metastatických a okultních karcinomech prsu (5,6).</p> <p>Protilátky k mammaglobinu se ukázaly jako nápomocné při klasifikaci B-buněčných neoplazií (36).</p> <p>Informace týkající se těchto témat naleznete v příručce General Instructions for Immunohistochemical Staining (Obecné pokyny pro imunohistochemické barvení) společnosti Dako nebo v návodu k systému detekce pro metody IHC.</p>
Dodávané činidlo	<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> 304-1A5 (3). <u>Izotyp:</u> IgG1, kappa.</p>
Imunogen	Purifikovaný rekombinantní protein mammaglobinu, obsahující aminokyseliny 15-93 (3).
Specifita	<p>V testu Western blot s lyzáty buněčných linií karcinomu prsu MDA-MB-415, buněčnými liniemi primárního nádoru prsu 450-17 a rekombinantním mammaglobinem značila protilátka pruhy o molekulové hmotnosti 14 kDa a 21 kDa. 9kDa forma mammaglobinu byla pozorována po enzymatické deglykosylaci MDA-MB-415 indikující glykosylaci proteinu mammaglobinu (1).</p> <p>V testu ELISA nebyla zjištěna žádná reakce u překrývajících se peptidů odpovídajících sekvenci mammaglobinu, která by naznačovala odpovídající epitop.</p>
Bezpečnostní opatření	<ol style="list-style-type: none">1. Určeno pro diagnostiku in vitro2. 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. Nepotřebované roztoky je nutno likvidovat v souladu s místními a celostátními předpisy.
Uchovávání	<p>Uchovávejte při 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 činidla skladují za jakýchkoli jiných než uvedených podmínek, musí uživatel tyto podmínky ověřit. Případná nestabilita výrobku by se neprojevila žádnými známkami. Proto je nutno provádět současně s testováním vzorků pacienta pozitivní a negativní kontroly. Pokud pozorujete 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.</p>

**Šablona protokolu
barvení***

Krok	Činidlo	Protokol
Deparafinizace	Clearify (kód GC810)	Výchozí
Předběžné zpracování	EnVision FLEX, High pH (kód GV804)	30minutové tepelně indukované vyhledávání epitopu
Primární protilátka	Ready-to-Use (kód GA074)	10minutová inkubace
Činidlo pro negativní kontrolu	FLEX Negative Control, Mouse (kód GA750)	10minutová inkubace
Vizualizace	EnVision FLEX (kód GV800)	Blok: 3 min; Polymer: 20 min; Chromogen: 5 min
Kontrastní barvivo	Hematoxylin (kód GC808)	3minutová inkubace
Montáž	Je vyžadována bezvodá permanentní montáž	Po vyjmutí nutno dehydratovat, vyčistit a namontovat
Kontrola kvality	Tkáň	Barvicí vzor
Kontrolní tkáň	Hyperplazie prsu, kůže	Cytoplazmatické zbarvení

*Uživatel se musí vždy seznámit s používanými činidly, která jsou uvedena v příbalové informaci, a vyhledat si podrobnosti v uživatelských příručkách Dako Omnis.

Příprava vzorku

Parafinové řezy: Protilátku lze používat ke značení řezů tkání fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu. Vzorky tkání je nutno rozřezat na řezy o tloušťce 4 µm. Z důvodu vyšší přilnavosti řezů tkání k podložním sklům se doporučuje používat podložní skla FLEX IHC Microscope Slides, kód K8020.

Postup barvení

Odstranění parafínu, vyhledání cíle, imunohistochemické barvení a kontrastní barvení se provádějí v přístroji Dako Omnis. V softwaru přístroje Dako Omnis jsou předem naprogramovány kroky barvení a inkubační doby. Pokud není v systému Dako Omnis připraven protokol, lze jej stáhnout ze stránky *Dako Omnis Protocol Update* (Aktualizace protokolu Dako Omnis) na webu www.dako.com. Podrobné pokyny ke vkládání podložních skl a plnění činidel naleznete v Základní uživatelské příručce Dako Omnis.

Přístroj Dako Omnis zajistí, aby tkáňové řezy během předběžného zpracování a následného imunohistochemického barvení nevyschly.

Předběžné zpracování: Odstranění parafínu z tkáňových řezů FFPE se provádí pomocí roztoku Clearify, kód GC810. Doporučuje se vyhledávání cíle s tepelně indukovaným vyhledáváním epitopu (HIER) pomocí naředěného roztoku EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), kód GV804.

Vizualizace: Doporučený vizualizační systém je EnVision FLEX, High pH (Dako Omnis), kód GV800.

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

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

Kontrola kvality

Pozitivní a negativní kontroly a také činidlo pro negativní kontrolu je nutno provádět vždy současně použitím stejného protokolu jako vzorky pacienta. Tkáň pro pozitivní kontrolu musí obsahovat hyperplazii prsu a kůže 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 Negative Control, Mouse, (Dako Omnis), kód GA750.

Interpretace zbarvení

Buněčný barvicí vzor je cytoplazmatický.

Charakteristiky účinnosti

Normální tkáně: Duktální epiteliální buňky hyperplazie prsu musí vykazovat alespoň fokální cytoplazmatickou reakci zbarvení střední až silné intenzity. Epiteliální buňky v potních žlázách kůže musí vykazovat alespoň fokální cytoplazmatickou reakci zbarvení střední až silné intenzity. Buňky skvamózního epitelu kůže musí být negativní.

Souhrn reaktivity s normálními tkáněmi (3):

Typ tkáně (počet testovaných)	Pozitivní prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Pozitivní prvky tkáně
Prs (10)	5/10 duktální epiteliální buňky	Duodenum (2)	0/2
Tračník (5)	0/5	Močový měchýř (1)	0/1
Ledvina (6)	0/6	Ileum (2)	0/2
Játra (3)	0/3	Vaječník (4)	0/4
Plíce (4)	0/4	Pankreas (2)	0/2
Mozek (3)	0/3	Parotická žláza (1)	0/1
Srdce (2)	0/2	Prostata (4)	0/4
Kostní dřeň (1)	0/1	Slezina (3)	0/3
Nadledvina (3)	0/3	Varlata (1)	0/1
Děložní hrdlo (2)	0/2	Kosterní sval (1)	0/1
Kůže (7)	7/7 epiteliální buňky výstelky apokrinních a ekrinních slinných žláz	Endometrium (3)	0/3

Abnormální tkáně:










Souhrn reaktivity s abnormálními tkáněmi (7):

Typ tkáně (počet testovaných)	Pozitivní prvky tkáně	Typ tkáně (počet testovaných)	Pozitivní prvky tkáně
Karcinom skvamózních buněk hlavy a krku (20)	0/20	Adenokarcinom slinivky břišní (3)	0/3
Adenokarcinom prsu (238)	114/238	Adenokarcinom děložní hrdlo (4) karcinom ze skvamózních buněk (10)	0/14
Nemalobuněčný adenokarcinom plic (79) karcinom ze skvamózních buněk (17) jiných (10)	0/106	Adenokarcinom endometria (9)	1/9
Adenokarcinom jícnu (1) karcinom ze skvamózních buněk (8)	0/9	Adenokarcinom vaječníku (10) adenom (3)	0/13
Adenokarcinom žaludku (19)	0/19	Papilární karcinom štítné žlázy (8)	0/8
Adenokarcinom tračnicku (16)	0/16		

Literatura

1. Wang Z, Spaulding B, Sienko A, Liang Y, Li H, Nielsen G, et al. Mammaglobin, a valuable marker for Metastatic breast carcinoma. Int J Clin Exp Pathol 2009; 2:384-9.
2. Watson MA and Fleming TP. Isolation of Differentially Expressed Sequence Tags from Human Breast Cancer. Cancer Res 1994; 54:4598-4602.
3. Fanger GR, Houghton RL, Retter MW, Hendrickson RC, Babcook J, Dillon DC, et al. Detection of mammaglobin in the sera of patients with breast cancer. Tumour Biol 2002; 23:212-21.
4. Grünewald K, Haun M, Fiegl M, Urbanek M, Müller-Holzner E, Massoner A, et al. Mammaglobin expression in gynecologic malignancies and malignant effusions detected by nested reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Laboratory Investigation 2002; 82:1147-53.
5. Min CJ, Tafra L, Verbanac KM. Identification of superior markers for polymerase chain reaction detection of breast cancer metastases in sentinel lymph nodes. Cancer Res 1998; 58:4581-4.
6. Watson MA, Dintzis S, Darrow CM, Voss LE, DiPersio J, Jensen R, et al. Mammaglobin expression in primary, metastatic, and occult breast cancer. Cancer Res 1999; 59:3028-31.
7. Sasaki E, Tsunoda N, Hatanaka Y, Mori N, Iwata H, Yatabe Y. Breast-specific expression of MGB1/mammaglobin: an examination of 480 tumors from various organs and clinicopathological analysis of MGB-1 positive breast cancers. Mod Pathol 2007;20:208-14.

Vysvětlivky k symbolům

 REF	Katalogové číslo		Teplotní rozsah od do	 IVD	In vitro diagnostický zdravotnický prostředek
	Výrobce	 LOT	Číslo šarže		Obsah postačující pro <n> testů
	Použitelné do		Viz návod k použití	 EC REP	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 2020.07