

# BOND™ Ready-to-Use Primary Antibody p53 (DO-7)

Catalog No: PA0057

Leica Biosystems Newcastle Ltd  
Balliol Business Park  
Benton Lane  
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW  
United Kingdom  
☎ +44 191 215 4242



[EN](#) [FR](#) [IT](#) [DE](#) [ES](#) [PT](#) [SV](#) [EL](#) [DA](#) [NL](#)  
[NO](#) [TR](#) [BG](#) [HU](#) [RO](#) [RU](#) [PL](#) [SL](#) [CS](#) [SK](#) [AR](#)

## Instructions for Use

Please read before using this product.

## Mode d'emploi

À lire avant d'utiliser ce produit.

## Istruzioni per L'uso

Si prega di leggere, prima di usare il prodotto.

## Gebrauchsanweisung

Bitte vor der Verwendung dieses Produkts lesen.

## Instrucciones de Uso

Por favor, leer antes de utilizar este producto.

## Instruções de Utilização

Leia estas instruções antes de utilizar este produto.

## Instruktioner vid Användning

Var god läs innan ni använder produkten.

## Οδηγίες Χρήσης

Παρακαλούμε διαβάστε τις οδηγίες πριν χρησιμοποιήσετε το προϊόν αυτό.

## Brugsanvisning

Læs venligst før produktet tages i brug.

## Gebruiksaanwijzing

Lezen vóór gebruik van dit product.

## Bruksanvisning

Vennligst les denne før du bruker produktet.

## Kullanım Talimatları

Lütfen bu ürünü kullanmadan önce okuyunuz.

## Инструкции за употреба

Моля, прочетете преди употреба на този продукт.

## Használati utasítás

A termék használatba vétele előtt olvassa el.

## Instrucțiuni de utilizare

Citiți aceste instrucțiuni înainte de a utiliza produsul.

## Инструкция по применению

Прочтите перед применением этого продукта.

## Instrukcja obsługi

Przed użyciem tego produktu należy przeczytać instrukcję.

## Navodila za uporabo

Preberite pred uporabo tega izdelka.

## Návod k použití

Čtěte před použitím tohoto výrobku.

## Návod na použitie

Prosím, prečítajte si ho pred použitím produktov.

## إرشادات الاستعمال

يُرجى القراءة قبل استخدام هذا المنتج.

## Check the integrity of the packaging before use.

Vérifier que le conditionnement est en bon état avant l'emploi.

Prima dell'uso, controllare l'integrità della confezione.

Vor dem Gebrauch die Verpackung auf Unversehrtheit überprüfen.

Comprobar la integridad del envase, antes de usarlo.

Verifique a integridade da embalagem antes de utilizar o produto.

Kontrollera att paketet är obrutet innan användning.

Ελέγξτε την ακεραιότητα της συσκευασίας πριν από τη χρήση.

Kontroller, at pakken er ubeskadiget før brug.

Controleer de verpakking vóór gebruik.

Sjekk at pakningen er intakt før bruk.

Kullanmadan önce ambalajın bozulmamış olmasını kontrol edin.

Проверете целостта на опаковката преди употреба.

Használat előtt ellenőrizze a csomagolás épségét.

Verificati integritatea ambalajului înainte de a utiliza produsul.

Перед применением убедитесь в целостности упаковки.

Przed użyciem należy sprawdzić, czy opakowanie jest szczelne.

Pred uporabo preverite celovitost embalaže.

Před použitím zkontrolujte neporušenost obalu.

Pre použitím skontrolujte, či balenie nie je porušené.

تحقق من سلامة العبوة قبل الاستخدام.



# BOND™ Ready-To-Use Primary Antibody

## p53 (DO-7)

Catalog No: PA0057

### Intended Use

*This reagent is for in vitro diagnostic use.*

p53 (DO-7) monoclonal antibody is intended to be used for the qualitative identification by light microscopy of human p53 protein in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue by immunohistochemical staining using the automated BOND system (includes Leica BOND-MAX system and Leica BOND-III system).

The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies and proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

### Summary And Explanation

Immunohistochemical techniques can be used to demonstrate the presence of antigens in tissue and cells (see "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation). p53 (DO-7) primary antibody is a ready to use product that has been specifically optimized for use with BOND Polymer Refine Detection. The demonstration of human p53 protein is achieved by first, allowing the binding of p53 (DO-7) to the section, and then visualizing this binding using the reagents provided in the detection system. The use of these products, in combination with the automated BOND system, reduces the possibility of human error and inherent variability resulting from individual reagent dilution, manual pipetting and reagent application.

### Reagents Provided

p53 (DO-7) is a mouse anti-human monoclonal antibody produced as a tissue culture supernatant, and supplied in Tris buffered saline with carrier protein, containing 0.35% ProClin™ 950 as a preservative.

Total volume = 7 mL.

### Clone

DO-7.

### Immunogen

Recombinant human wild type p53 protein.

### Specificity

Human p53 protein wild type and mutant forms under both denaturing and non-denaturing conditions.

### Subclass

IgG2b.

### Total Protein Concentration

Approx 10 mg/mL.

### Antibody Concentration

Greater than or equal to 0.06 mg/L as determined by ELISA.

### Dilution and Mixing

p53 (DO-7) primary antibody is optimally diluted for use on the BOND system. Reconstitution, mixing, dilution or titration of this reagent is not required.

### Materials Required But Not Provided

Refer to "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation for a complete list of materials required for specimen treatment and immunohistochemical staining using the BOND system.

### Storage and Stability

Store at 2–8 °C. Do not use after the expiration date indicated on the container label.

The signs indicating contamination and/or instability of p53 (DO-7) are: turbidity of the solution, odor development, and presence of precipitate.

Return to 2–8 °C immediately after use.

Storage conditions other than those specified above must be verified by the user<sup>1</sup>.

### Precautions

- This product is intended for in vitro diagnostic use.
- The concentration of ProClin™ 950 is 0.35%. It contains the active ingredient 2-methyl-4-isothiazolin-3-one, and may cause irritation to the skin, eyes, mucous membranes and upper respiratory tract. Wear disposable gloves when handling reagents.
- To obtain a copy of the Material Safety Data Sheet contact your local distributor or regional office of Leica Biosystems, or alternatively, visit the Leica Biosystems' Web site, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

- Specimens, before and after fixation, and all materials exposed to them, should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions<sup>2</sup>. Never pipette reagents by mouth and avoid contacting the skin and mucous membranes with reagents or specimens. If reagents or specimens come in contact with sensitive areas, wash with copious amounts of water. Seek medical advice.
- Consult Federal, State or local regulations for disposal of any potentially toxic components.
- Minimize microbial contamination of reagents or an increase in non-specific staining may occur.
- Retrieval, incubation times or temperatures other than those specified may give erroneous results. Any such change must be validated by the user.

## Instructions for Use

p53 (DO-7) primary antibody was developed for use on the automated BOND system in combination with BOND Polymer Refine Detection. The recommended staining protocol for p53 (DO-7) primary antibody is IHC Protocol F. Heat induced epitope retrieval is recommended using BOND Epitope Retrieval Solution 2 for 20 minutes.

## Results Expected

### Normal Tissues

Due to low levels of the p53 protein in normal tissues, staining with p53 (DO-7) is weak in the nucleus of mucosal crypt cells and lymphoid aggregates in bowel, basal epithelial cells of cervix and tonsil, germinal centers of tonsil, pneumocytes in lung, keratinocytes of epidermis, seminiferous tubules of testis and in pituitary and adrenal glands. (Total number of normal cases stained = 84)

### Tumor Tissues

Clone DO-7 stained 56/86 tumors evaluated, including breast tumors (28/41, including 26/38 ductal carcinomas, 1/1 phyllodes tumor, 1/1 cytosarcoma phyllodes and 0/1 atypical medullary carcinoma), ovarian tumors (4/5, including 2/2 serous carcinomas, 1/1 mucinous carcinoma, 1/1 clear cell carcinoma, and 0/1 germ cell tumor), lung tumors (3/4, including 2/3 non-small cell carcinomas and 1/1 squamous cell carcinomas), thyroid papillary carcinomas (2/4), liver tumors (2/4), squamous cell carcinomas of the tongue (2/2), metastatic tumors of unknown origin (2/2), adenocarcinomas of the colon (3/3), adenocarcinomas of the rectum (2/2), brain tumors (1/2), squamous cell carcinomas of the esophagus (1/2), adenocarcinomas of the stomach (1/2), soft tissue tumors (1/2), renal cell carcinomas (1/2), squamous cell carcinomas of the cervix (1/2), skin tumors (1/2), uterine endometrioid carcinoma (1/1), testicular seminomas (0/2), squamous cell carcinoma of the larynx (0/1) and atypical carcinoid tumor of the thymus (0/1). (Total number of tumor cases evaluated = 86).

**p53 (DO-7) is recommended for the detection of human p53 protein in normal and neoplastic tissues, as an adjunct to conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.**

## Product Specific Limitations

p53 (DO-7) has been optimized at Leica Biosystems for use with BOND Polymer Refine Detection and BOND ancillary reagents. Users who deviate from recommended test procedures must accept responsibility for interpretation of patient results under these circumstances. The protocol times may vary, due to variation in tissue fixation and the effectiveness of antigen enhancement, and must be determined empirically. Negative reagent controls should be used when optimizing retrieval conditions and protocol times.

## Troubleshooting

Refer to reference 3 for remedial action.

Contact your local distributor or the regional office of Leica Biosystems to report unusual staining.

## Further Information

Further information on immunostaining with BOND reagents, under the headings Principle of the Procedure, Materials Required, Specimen Preparation, Quality Control, Assay Verification, Interpretation of Staining, Key to Symbols on Labels, and General Limitations can be found in "Using BOND Reagents" in your BOND user documentation.

## Bibliography

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. *Cytopathology*. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. *British Journal of Cancer*. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. *Journal of Pathology*. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. *British Journal of Cancer*. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. *Journal of Clinical Pathology*. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology*. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.

12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

**Date of Issue**

03 October 2018

# Anticorps Primaire Prêt À L'emploi BOND™

## p53 (DO-7)

### Référence: PA0057

#### Utilisation Prévue

*Ce réactif est destiné au diagnostic in vitro.*

L'anticorps monoclonal p53 (DO-7) est conçu pour l'identification qualitative en microscopie optique de la protéine p53 humaine sur tissu fixé à la formaline, enrobé de paraffine, par marquage immunohistochimique automatisé BOND (qui comprend les systèmes Leica BOND-MAX et Leica BOND-III).

L'interprétation clinique de tout marquage ou de son absence doit être complétée par des études morphologiques utilisant des contrôles appropriés et évaluée dans le contexte des antécédents cliniques du patient et des autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

#### Résumé et Explications

Les techniques immunohistochimiques peuvent être utilisées pour la mise en évidence d'antigènes sur tissus ou cellules (voir Utilisation des réactifs BOND dans votre manuel d'utilisation BOND). L'anticorps primaire p53 (DO-7) est prêt à l'emploi et a été spécialement optimisé pour BOND Polymer Refine Detection. La mise en évidence de la protéine p53 humaine est effectuée en hybridant p53 (DO-7) sur la coupe, puis en visualisant le complexe avec les réactifs du système de détection. L'utilisation de ces produits, en association avec l'automate BOND, réduit les possibilités d'erreurs humaines et de variations lors des dilutions, du pipetage manuel et de l'application des réactifs.

#### Réactifs Fournis

p53 (DO-7) est un anticorps monoclonal anti-humain de souris, produit par surnageant de culture de tissu et conditionné dans du tampon salin Tris avec une protéine de transport, contenant 0,35% de ProClin™ 950 comme conservateur.

Volume total = 7 ml.

#### Clone

DO-7.

#### Immunogène

Protéine p53 de type sauvage humaine recombinante.

#### Spécificité

Type sauvage et formes mutantes de la protéine p53 humaine en condition dénaturantes et non dénaturantes.

#### Sous-classe

IgG2b.

#### Concentration Totale en Protéine

Environ 10 mg/ml.

#### Concentration en Anticorps

Supérieure ou égale à 0,06 mg/l déterminée par ELISA.

#### Dilution et Mélange

L'anticorps primaire p53 (DO-7) est à dilution optimale pour utilisation dans BOND. Reconstitution, mélange, dilution et titration de ce réactif non nécessaires.

#### Matériel Nécessaire Non Fournis

Voir « Utilisation des réactifs BOND » dans votre manuel d'utilisation pour obtenir la liste complète du matériel nécessaire au traitement des échantillons et au marquage immunohistochimique avec BOND.

#### Conservation et Stabilité

Conserver entre 2–8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette du récipient.

Une turbidité de la solution, une présence d'odeurs ou de précipité sont des signes indicateurs d'une contamination et/ou d'une instabilité de p53 (DO-7).

Remettre à 2–8 °C immédiatement après usage.

Des conditions de stockage différentes de celles ci-dessus doivent être contrôlées par l'utilisateur<sup>1</sup>.

#### Précautions

- Ce produit est conçu pour le diagnostic in vitro.
- La concentration de ProClin™ 950 est de 0,35%. Contient du 2-méthyl-4-isothiazoline-3-one (principe actif) et peut entraîner des irritations de la peau, des yeux, des muqueuses et des voies aériennes supérieures. Porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs.
- Pour obtenir une copie de la fiche technique des substances dangereuses, contactez votre distributeur local ou le bureau régional de Leica Biosystems, ou allez sur le site Web de Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

- Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériels ayant été en contact avec eux, devraient être manipulés comme s'ils étaient à risque infectieux et éliminés avec les précautions adéquates<sup>2</sup>. Ne jamais pipeter les réactifs à la bouche et éviter le contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs ou les échantillons. Si des réactifs ou des échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, rincer abondamment à l'eau. Consultez un médecin.
- Renseignez-vous sur les règlements fédéraux, nationaux et locaux pour l'élimination des composés potentiellement toxiques.
- Éviter une contamination microbienne des réactifs qui peut entraîner un marquage non spécifique.
- Des durées ou températures de démasquage ou d'incubation autres que celles spécifiées peuvent donner des résultats erronés. Tout changement doit être validé par l'utilisateur.

## Mode d'emploi

L'anticorps primaire p53 (DO-7) a été développé pour être utilisé dans l'automate BOND avec BOND Polymer Refine Detection. Le protocole de marquage recommandé pour l'anticorps primaire p53 (DO-7) est IHC Protocol F. Un démasquage d'épitopes par la chaleur est recommandé en utilisant BOND Epitope Retrieval Solution 2 durant 20 minutes.

## Résultats Attendus

### Tissus sains

En raison de faibles niveaux de la protéine p53 dans les tissus normaux, le marquage par p53 (DO-7) est faible dans le noyau des cellules des cryptes muqueuses et des agrégats lymphoïdes dans l'intestin, les cellules épithéliales basales du col utérin et les amygdales, les centres germinatifs des amygdales, les pneumocytes du poumon, les kératinocytes de l'épiderme, les tubes séminifères des testicules et dans les glandes pituitaires et surrénales. (Nombre total de cas normaux marqués = 84).

### Tissus tumoraux

Le clone DO-7 a marqué 56/86 tumeurs évaluées, dont des tumeurs du sein (28/41, dont 26/38 carcinomes canaux, 1/1 tumeur phyllode, 1/1 cystosarcome phyllode et 0/1 carcinome médullaire atypique), des tumeurs de l'ovaire (4/5, dont 2/2 carcinomes séreux, 1/1 carcinome mucineux, 1/1 carcinome à cellules claires et 0/1 tumeur germinale), des tumeurs du poumon (3/4, dont 2/3 carcinomes à grandes cellules et 1/1 carcinome squameux), des carcinomes papillaires de la thyroïde (2/4), des tumeurs du foie (2/4), des carcinomes squameux de la langue (2/2), des tumeurs métastatiques d'origine inconnue (2/2), des adénocarcinomes du côlon (3/3), des adénocarcinomes du rectum (2/2), des tumeurs cérébrales (1/2), des carcinomes squameux de l'œsophage (1/2), des adénocarcinomes de l'estomac (1/2), des tumeurs des tissus mous (1/2), des carcinomes à cellules rénales (1/2), des carcinomes squameux du col utérin (1/2), des tumeurs de la peau (1/2), un carcinome squameux de l'utérus (1/1), des séminomes testiculaires (0/2), un carcinome squameux du larynx (0/1) et une tumeur carcinoïde atypique du thymus (0/1). (Nombre total de cas de tumeur évalués = 86).

**Le p53 (DO-7) est recommandé pour la détection de la protéine p53 humaine dans les tissus normaux et néoplasiques, en complément à l'histopathologie traditionnelle utilisant des marqueurs histochimiques non immunologiques.**

## Limites Spécifiques du Produit

p53 (DO-7) a été optimisé chez Leica Biosystems pour une utilisation avec BOND Polymer Refine Detection et les réactifs auxiliaires BOND. Les utilisateurs qui ne respectent pas les procédures de test recommandées prennent la responsabilité de l'interprétation des résultats des patients dans ces conditions. Les durées du protocole doivent être déterminées empiriquement, à cause des variations de fixation des tissus et d'efficacité du renforcement antigénique. Des contrôles négatifs des réactifs devraient être réalisés lors de l'optimisation des conditions de démasquage et des durées du protocole.

## Identification des Problèmes

Voir la référence 3 pour connaître les actions correctrices.

Prenez contact avec votre distributeur local ou avec le bureau régional de Leica Biosystems pour signaler tout marquage inattendu.

## Informations Complémentaires

Des informations complémentaires sur l'immunomarquage avec les réactifs BOND, les principes de la méthode, le matériel nécessaire, la préparation des échantillons, le contrôle qualité, les vérifications d'analyse, l'interprétation du marquage, les légendes et symboles sur les étiquettes et les limites générales, peuvent être obtenues dans Utilisation des réactifs BOND dans votre manuel d'utilisation BOND.

## Bibliographie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order Code : M9-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996;7(3):178–186.
5. Home GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996;73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002;86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in phaeochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001;54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001;158(6):2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000;8(3):213–222.

11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999;52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997;183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology & Immunotherapy*. 1995;41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995;177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995;176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994;172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994;172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994;173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

### **Date de Publication**

03 octobre 2018



# Anticorpo Primario Pronto All'uso BOND™

## p53 (DO-7)

N. catalogo: PA0057

### Uso Previsto

*Reagente per uso diagnostico in vitro.*

L'uso dell'anticorpo monoclonale p53 (DO-7) è previsto per l'identificazione qualitativa con microscopio ottico della proteina umana p53 in tessuto fissato in formalina, incluso in paraffina, con colorazione immunocistochemica, utilizzando il sistema automatizzato BOND (include il sistema Leica BOND-MAX e il sistema Leica BOND-III).

L'interpretazione clinica di un'eventuale colorazione, o della sua assenza, deve avvalersi di studi morfologici e di opportuni controlli ed essere effettuata da patologi qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

### Sommario e Speigazione

Grazie alle tecniche di immunocistochemica è possibile dimostrare la presenza di antigeni nel tessuto e nelle cellule (vedere "Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND). L'anticorpo primario p53 (DO-7) è un prodotto pronto per l'uso che è stato ottimizzato in modo specifico per l'impiego con il BOND Polymer Refine Detection. La dimostrazione della proteina umana p53 si ottiene in primo luogo consentendo il legame del p53 (DO-7) con la sezione, e quindi visualizzando il legame stesso per mezzo dei reagenti forniti nel sistema di rilevazione. L'impiego di questi prodotti, insieme al sistema automatizzato BOND, riduce la possibilità di un errore umano e la relativa variabilità che deriva dalla diluizione individuale del reagente e dal pipettamento e dall'applicazione del reagente eseguiti manualmente.

### Reagenti Forniti

Il p53 (DO-7) è un anticorpo monoclonale murino anti-umano prodotto come surmatante di coltura tissutale e fornito in soluzione salina tamponata Tris con proteina carrier, contenente 0,35% di ProClin™ 950 come conservante.

Volume totale = 7 ml.

### Clone

DO-7.

### Immunogeno

Proteina p53 ricombinante umana non mutata.

### Specificità

Proteina p53 umana non mutata e forme mutanti in condizioni denaturanti e non denaturanti.

### Sottoclasse

IgG2b.

### Concentrazione Proteica Totale

Circa 10 mg/ml.

### Concentrazione Dell'anticorpo

Uguale o superiore a 0,06 mg/l, determinata mediante ELISA.

### Diluizione e Miscelazione

La diluizione dell'anticorpo primario p53 (DO-7) è stata ottimizzata per l'uso con il sistema BOND. Non è necessario ricostituire, miscelare, diluire o titolare il reagente.

### Materiale Necessario Non Fornito

Per un elenco completo dei materiali necessari per il trattamento del campione e la colorazione immunocistochemica con il sistema BOND, consultare l'"Uso dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND.

### Conservazione e Stabilità

Conservare a 2–8 °C. Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata sull'etichetta del contenitore.

I segni di contaminazione e/o instabilità del p53 (DO-7) sono: torbidità della soluzione, formazione di odori e presenza di un precipitato. Riportare a 2–8 °C immediatamente dopo l'uso.

L'utente deve verificare eventuali condizioni di conservazione diverse da quelle specificate<sup>1</sup>.

### Precauzioni

- Il prodotto è destinato all'uso diagnostico in vitro.
- La concentrazione del ProClin™ 950 è 0,35%. Esso contiene il principio attivo 2-metil-4-isotiazolin-3-one e può causare irritazione alla cute, agli occhi, alle membrane mucose e alle alte vie respiratorie. Per la manipolazione dei reagenti usare guanti monouso.
- Una copia della Scheda di sicurezza può essere richiesta al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems o, in alternativa, visitando il sito di Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

- I campioni, prima e dopo la fissazione, e tutti i materiali esposti ad essi devono essere manipolati come potenziali vettori di infezione e smaltiti con le opportune precauzioni<sup>2</sup>. Non pipettare mai i reagenti con la bocca ed evitare il contatto dei reagenti o dei campioni con la pelle e le membrane mucose. Se un reagente o un campione viene a contatto con zone sensibili, lavare abbondantemente con acqua. Consultare un medico.
- Consultare la normativa nazionale, regionale o locale vigente per lo smaltimento dei componenti potenzialmente tossici.
- Ridurre al minimo la contaminazione microbica dei reagenti per evitare il rischio di una colorazione non specifica.
- Tempi o temperature di incubazione diversi da quelli specificati possono fornire risultati erranei. Ogni eventuale modifica deve essere validata dall'utente.

## Istruzioni per L'uso

L'anticorpo primario p53 (DO-7) è stato sviluppato per essere utilizzato con il sistema automatizzato BOND in associazione con il BOND Polymer Refine Detection. Il protocollo di colorazione consigliato per l'anticorpo primario p53 (DO-7) è l'IHC Protocol F. Per lo smascheramento termindotto dell'epitopo si consiglia l'uso della BOND Epitope Retrieval Solution 2 per 20 minuti.

## Risultati Attesi

### Tessuti normali

A causa dei livelli bassi di proteina p53 nei tessuti normali, la colorazione con p53 (DO-7) è debole nel nucleo delle cellule mucipare della cripta e degli aggregati linfoidi di intestino, delle cellule epiteliali basali di cervice e tonsille, dei centri germinali delle tonsille, degli pneumociti nei polmoni, dei cheratinociti dell'epidermide, dei tubuli seminiferi dei testicoli e delle ghiandole pituitaria e surrenale. (Numero complessivo di casi normali colorati = 84).

### Tessuti neoplastici

Il clone DO-7 ha colorato 56/86 tumori valutati, tra cui tumori della mammella (28/41, inclusi 26/38 carcinomi duttali, 1/1 tumore filloide, 1/1 citosarcoma filloide e 0/1 carcinoma midollare atipico), tumori dell'ovaio (4/5, inclusi 2/2 carcinomi sierosi, 1/1 carcinoma mucinoso, 1/1 carcinoma a cellule chiare e 0/1 tumore a cellule germinali), tumori del polmone (3/4, inclusi 2/3 carcinomi non a cellule piccole e 1/1 carcinoma a cellule squamose), carcinomi papillari della tiroide (2/4), tumori del fegato (2/4), carcinomi a cellule squamose della lingua (2/2), tumori metastatici di origine sconosciuta (2/2), adenocarcinomi del colon (3/3), adenocarcinomi del retto (2/2), tumori del cervello (1/2), carcinomi a cellule squamose dell'esofago (1/2), adenocarcinomi dello stomaco (1/2), tumori dei tessuti molli (1/2), carcinomi a cellule renali (1/2), carcinomi a cellule squamose della cervice (1/2), tumori della pelle (1/2), carcinoma endometriale dell'utero (1/1), seminomi testicolari (0/2), carcinomi a cellule squamose della laringe (0/1) e tumore carcinoide atipico del timo (0/1). (Numero complessivo di casi di tumore valutati = 86).

**L'uso di p53 (DO-7) è consigliato per il rilevamento della proteina p53 umana in tessuti normali e neoplastici. In aggiunta all'istopatologia convenzionale che si avvale di colorazioni istochimiche non immunologiche.**

## Limitazioni Specifiche del Prodotto

Il p53 (DO-7) è stato ottimizzato da Leica Biosystems per l'uso con il BOND Polymer Refine Detection e con i reagenti ausiliari BOND. Gli utenti che modificano le procedure raccomandate devono assumersi la responsabilità dell'interpretazione dei risultati relativi ai pazienti in tali circostanze. I tempi del protocollo possono variare in base alle variazioni nella fissazione del tessuto e nell'efficienza del potenziamento dell'antigene e devono essere definiti in modo empirico. Nell'ottimizzazione delle condizioni di riconoscimento e dei tempi del protocollo si devono impiegare dei controlli negativi del reagente.

## Soluzione Problemi

Per le azioni di rimedio consultare il riferimento bibliografico n. 3.

Per riferire una colorazione inusuale rivolgersi al distributore locale o all'ufficio di zona di Leica Biosystems.

## Ulteriori Informazioni

Altre informazioni sull'immunocolorezione con i reagenti BOND si trovano in "Use dei reagenti BOND" nella documentazione per l'utente BOND, ai titoli Principio della procedura, Materiali necessari, Preparazione del campione, Controllo di qualità, Verifica del saggio, Interpretazione della colorazione, Leggenda dei simboli e delle etichette e Limitazioni generali.

## Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Home GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in phaeochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213–222.

11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology & Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

### **Data di Pubblicazione**

03 ottobre 2018

# Gebrauchsfertiger BOND™ -Primärantikörper p53 (DO-7)

Bestellnr.: PA0057

## Verwendungszweck

*Dieses Reagenz ist für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.*

Der monoklonale Antikörper p53 (DO-7) ist für den qualitativen lichtmikroskopischen Nachweis des humanen p53-Proteins in formalinfiziertem, in Paraffin eingebettetem Gewebe durch immunhistochemische Färbung mit dem automatischen BOND-System (bestehend aus dem Leica BOND-MAX-System und dem Leica BOND-III-System) vorgesehen.

Die klinische Auswertung der An- oder Abwesenheit einer Färbung sollte durch morphologische Untersuchungen und geeignete Kontrollen ergänzt werden und sollte im Zusammenhang mit der Krankengeschichte eines Patienten und anderen diagnostischen Tests von einem qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

## Zusammenfassung und Erläuterung

Immunhistochemische Methoden können dazu verwendet werden, die Anwesenheit von Antigenen in Geweben und Zellen zu demonstrieren (sehen Sie dazu "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch). Der Primärantikörper p53 (DO-7) ist ein gebrauchsfertiges Produkt, das speziell für den Gebrauch mit dem BOND Polymer Refine Detection optimiert wurde. Der Nachweis des humanen p53-Proteins erfolgt durch die Bindung von p53 (DO-7) an das Präparat und die anschließende Sichtbarmachung dieser Bindung mit den Reagenzien, die im Detektionssystem bereitgestellt werden. Die Verwendung dieser Produkte zusammen mit dem automatischen BOND-System reduziert die Wahrscheinlichkeit menschlicher Fehler sowie die natürlichen Schwankungen, die beim individuellen Verdünnen von Reagenzien, manuellen Pipettieren und Auftragen der Reagenzien auftreten.

## Mitgelieferte Reagenzien

p53 (DO-7) ist ein monoklonaler Maus-anti-Human Antikörper, der aus Zellkulturüberstand hergestellt wurde, in Tris-gepufferter Salzlösung mit einem Trägerprotein geliefert wird und 0,35% ProClin™ 950 als Konservierungsmittel enthält.

Gesamtvolumen = 7 ml.

## Klon

DO-7.

## Immunogen

Rekombinantes humanes Wildtyp-p53-Protein.

## Spezifität

Wildtyp- und mutierte Formen des humanen p53-Proteins unter denaturierenden und nicht denaturierenden Bedingungen.

## Subklasse

IgG2b.

## Gesamtproteinkonzentration

Ca. 10 mg/ml.

## Antikörperkonzentration

Größer oder gleich 0,06 mg/l, bestimmt mit ELISA.

## Verdünnung und Mischung

Der Primärantikörper p53 (DO-7) ist optimal für den Gebrauch mit dem BOND-System verdünnt. Rekonstitution, Mischen, Verdünnen oder Titrieren dieses Reagenzes ist nicht erforderlich.

## Erforderliche, Aber Nicht Mitgelieferte Materialien

Eine vollständige Liste der Materialien, die für die Probenbehandlung und die immunhistochemische Färbung mit dem BOND-System benötigt werden, befindet sich im Abschnitt "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

## Aufbewahrung und Stabilität

Bei 2–8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälteretikett angegebenen Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Zeichen, die auf eine Kontamination und/oder Instabilität von p53 (DO-7) hinweisen, sind eine Trübung der Lösung, Geruchsentwicklung, und das Vorhandensein von Präzipitaten.

Unmittelbar nach Gebrauch wieder bei 2–8 °C aufbewahren.

Andere als die oben angegebenen Lagerungsbedingungen müssen vom Anwender selbst getestet werden<sup>1</sup>.

## Lagerung und Stabilität

- Dieses Produkt ist für die In-vitro-Diagnostik bestimmt.
- Die Konzentration von ProClin™ 950 beträgt 0,35%. Es enthält 2-Methyl-4-isothiazolin-3-on als aktiven Bestandteil und kann Reizungen der Haut, Augen, Schleimhäute und oberen Atemwege verursachen. Tragen Sie beim Umgang mit Reagenzien Einweghandschuhe.

- Ein Exemplar des Sicherheitsdatenblattes erhalten Sie von Ihrer örtlichen Vertriebsfirma, von der Regionalniederlassung von Leica Biosystems oder über die Webseite von Leica Biosystems unter [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).
- Behandeln Sie Präparate vor und nach der Fixierung sowie sämtliche damit in Berührung kommenden Materialien so, als ob sie Infektionen übertragen könnten und entsorgen Sie sie unter Beachtung der entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen<sup>2</sup>. Pipettieren Sie Reagenzien niemals mit dem Mund und vermeiden Sie den Kontakt von Haut oder Schleimhäuten mit Reagenzien oder Präparaten. Falls Reagenzien oder Präparate mit empfindlichen Bereichen in Kontakt kommen, spülen Sie diese mit reichlich Wasser. Holen Sie anschließend ärztlichen Rat ein.
- Beachten Sie bei der Entsorgung potentiell toxischer Bestandteile die behördlichen und örtlichen Vorschriften.
- Mikrobielle Kontaminationen sollten minimiert werden, da es sonst zu einer Zunahme unspezifischer Färbungen kommen kann.
- Die Verwendung anderer als die angegebenen Retrievals, Inkubationszeiten oder Temperaturen kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Diesbezügliche Änderungen müssen vom Anwender selbst getestet werden.

## Gebrauchsanweisung

Der Primäran antikörper p53 (DO-7) wurde für den Gebrauch mit dem automatischen BOND-System in Verbindung mit dem BOND Polymer Refine Detection entwickelt. Das empfohlene Färbeverfahren für den Primäran antikörper p53 (DO-7) ist das IHC Protocol F. Das hitzeinduzierte Epitop-Retrieval wird unter Verwendung der BOND Epitope Retrieval Solution 2 für 20 Minuten empfohlen.

## Erwartete Ergebnisse

### Normale Gewebe

Auf Grund der niedrigen Spiegel des Proteins p53 in normalem Gewebe ist die Färbung mit p53 (DO-7) im Nukleus der mukosalen Sinuszellen und in den lymphoiden Aggregaten im Darm, basalen Epithelzellen von Zervix und Mandeln, Keimzentren der Mandeln, Pneumozyten in der Lunge, Keratinozyten der Epidermis, seminiferösen Tuben der Hoden sowie in der Hypophyse und in den adrenalen Drüsen. (Gesamtanzahl der gefärbten normalen Fälle = 84.)

### Tumorgewebe

Der Klon DO-7 färbte 56/86 der evaluierten Tumore, darunter Brusttumore (28/41, einschließlich 26/38 duktales Karzinomen, 1/1 Phylloidentumoren, 1/1 Zytosarkomphylloden sowie 0/1 atypischen medullären Karzinomen), Eierstocktumore (4/5, einschließlich 2/2 serösen Karzinomen, 1/1 muzinösen Karzinomen, 1/1 klarzelliger Karzinomen und 0/1 Keimzellentumoren), Lungentumore (3/4, einschließlich 2/3 nicht kleinen Epithelkarzinomen und 1/1 Plattenepithelkarzinomen), papilläre Schilddrüsenkarzinome (2/4), Lebertumore (2/4), Plattenepithelkarzinome der Zunge (2/2), metastatische Tumore unbekannter Herkunft (2/2), Adenokarzinome des Colons (3/3), Adenokarzinome des Rektums (2/2), Hirntumore (1/2), Plattenepithelkarzinome des Oesophagus (1/2), Adenokarzinome des Magens (1/2), Weichgewebetumore (1/2), renale Epithelkarzinome (1/2), Plattenepithelkarzinome der Zervix (1/2), Hauttumore (1/2), endometrioiden Uteruskarzinome (1/1), Hodenseminome (0/2), Plattenepithelkarzinome des Larynx (0/1) sowie atypische karzinoide Tumore des Thymus (0/1). (Gesamtanzahl der evaluierten Tumorfälle = 86.)

**p53 (DO-7) wird für den Nachweis von humanem p53-Protein in normalem und neoplastischem Gewebe als zusätzliches Hilfsmittel zur herkömmlichen Histopathologie unter Verwendung nicht-immunologischer histochemischer Färbemittel empfohlen.**

## Produktspezifische Einschränkungen

p53 (DO-7) wurde von Leica Biosystems zur Verwendung mit dem BOND Polymer Refine Detection und BOND-Zusatzreagenzien optimiert. Anwender, die andere als die empfohlenen Testverfahren verwenden, müssen unter diesen Umständen die Verantwortung für die Auswertung der Patientenergebnisse übernehmen. Die Verfahrenszeiten können aufgrund von Unterschieden in der Gewebefixierung und der Wirksamkeit der Antigenverstärkung variieren und müssen empirisch bestimmt werden. Bei der Optimierung der Retrieval-Bedingungen und Verfahrenszeiten sollten negative Reagenzkontrollen verwendet werden.

## Fehlersuche

Maßnahmen zur Abhilfe beim Auftreten von Fehlern finden Sie in Referenz 3.

Falls Sie ungewöhnliche Färbegergebnisse beobachten, wenden Sie sich an Ihre örtliche Vertriebsfirma oder an die Regionalniederlassung von Leica Biosystems.

## Weitere Informationen

Weitere Informationen zur Immunfärbung mit BOND-Reagenzien finden Sie in den Abschnitten Grundlegende Vorgehensweise, Erforderliches Material, Probenvorbereitung, Qualitätskontrolle, Assay-Verifizierung, Deutung der Färbung, Schlüssel der Symbole auf den Etiketten und Allgemeine Einschränkungen in "Das Arbeiten mit BOND-Reagenzien" in Ihrem BOND-Benutzerhandbuch.

## Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 28. February 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.

9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X und Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology*. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology & Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM und Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

## **Ausgabedatum**

03 Oktober 2018

# Anticuerpo Primario Listo Para Usar BOND™ p53 (DO-7)

Catálogo N°.: PA0057

## Indicaciones de Uso

*Este reactivo es para uso diagnóstico in vitro.*

El anticuerpo monoclonal p53 (DO-7) está destinado a utilizarse en la identificación cualitativa por microscopía óptica de proteína p53 humana en tejidos fijados en formalina e incluidos en parafina, mediante tinción inmunohistoquímica con el sistema BOND automatizado (incluye el sistema Leica BOND-MAX y el sistema Leica BOND-III).

La interpretación clínica de cualquier tinción o de la ausencia de ésta debe complementarse con estudios morfológicos y controles adecuados, y debe evaluarla un patólogo cualificado junto con el historial clínico del paciente y con otras pruebas diagnósticas.

## Resumen y Explicación

Las técnicas inmunohistoquímicas pueden ser utilizadas para detectar la presencia de antígenos en tejidos y células (véase "Uso de reactivos BOND" en la documentación de usuario suministrada por BOND). El anticuerpo primario p53 (DO-7) es un producto listo para usar que se ha optimizado específicamente para su uso con BOND Polymer Refine Detection. La demostración de la proteína p53 humana se consigue, en primer lugar, permitiendo la unión de p53 (DO-7) a la sección y, a continuación, visualizando esta unión con los reactivos que proporciona el sistema de detección. El uso de estos productos, en combinación con el sistema automatizado BOND, reduce la posibilidad de error humano y la variabilidad inherente resultante de la dilución individual del reactivo, el pipeteado manual y la aplicación del reactivo.

## Reactivos Suministrados

p53 (DO-7) es un anticuerpo monoclonal antihumano de ratón que se produce como sobrenadante en cultivos de tejido, y se suministra en solución salina tamponada de Tris con proteína portadora, que contiene el 0,35% de ProClin™ 950 como conservante.

Volumen total = 7 mL.

## Clon

DO-7.

## Inmunógeno

Proteína p53 de tipo salvaje humana recombinante.

## Especificidad

Proteína humana p53 de tipo salvaje y formas mutantes, tanto en condiciones de desnaturalización como de no desnaturalización.

## Subclase

IgG2b.

## Concentración Total de Proteína

Aprox. 10 mg/mL.

## Concentración de Anticuerpos

Mayor o igual a 0,06 mg/L según lo determinado por ELISA.

## Dilución y Mezcla

El anticuerpo primario p53 (DO-7) se presenta en dilución óptima para su uso en el sistema BOND. No es necesaria la reconstitución, mezcla, dilución o titulación de este reactivo.

## Material Necesario Pero No Suministrado

Consulte, en el apartado "Uso de reactivos BOND" de la documentación de usuario de BOND, la lista completa del material necesario para el tratamiento de las muestras y la tinción inmunohistoquímica cuando se utiliza el sistema BOND.

## Almacenamiento y Estabilidad

Debe conservarse a 2–8 °C. No utilizar después de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta.

Los signos de contaminación y/o inestabilidad de p53 (DO-7) son: turbidez de la solución, aparición de olor y presencia de precipitado. Volver a guardar a 2–8 °C inmediatamente después de su uso.

Si las condiciones de conservación son diferentes de las especificadas, el usuario debe realizar las comprobaciones necesarias<sup>1</sup>.

## Precauciones

- Este producto es para uso diagnóstico in vitro.
- La concentración de ProClin™ 950 es de 0,35%. Contiene el principio activo 2-metil-4-isotiazolin-3-ona, que puede producir irritación en la piel, ojos, mucosas y tracto respiratorio superior. Lleve siempre guantes desechables cuando manipule los reactivos.
- Si desea obtener un ejemplar de la Hoja de datos de seguridad de los materiales, póngase en contacto con su distribuidor o con la oficina regional de Leica Biosystems, o visite la página Web de Leica Biosystems en [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

- Las muestras, antes y después de ser fijadas, y cualquier material en contacto con ellas, deben ser tratados como sustancias capaces de transmitir infecciones y deben ser eliminadas con las precauciones correspondientes<sup>2</sup>. No pipetee nunca los reactivos con la boca, y evite el contacto de la piel y las mucosas con reactivos o muestras. Si algún reactivo o alguna muestra entra en contacto con zonas sensibles, lávelas con agua abundante. Consulte a un médico.
- Consulte la normativa federal, nacional o local referente a la eliminación de sustancias potencialmente tóxicas.
- Minimice la contaminación microbiana de los reactivos, ya que puede producir un aumento de las tinciones inespecíficas.
- Los tiempos de exposición e incubación, y las temperaturas diferentes de las especificadas pueden dar resultados erróneos. Cualquier cambio que se produzca deberá ser validado por el usuario.

## Instrucciones de Uso

El anticuerpo primario p53 (DO-7) se ha desarrollado para su uso en el sistema automatizado BOND en combinación con BOND Polymer Refine Detection. El protocolo de tinción recomendado para el anticuerpo primario p53 (DO-7) es IHC Protocol F. Se recomienda la exposición de epítomos inducida por calor usando BOND Epitope Retrieval Solution 2 durante 20 minutos.

## Resultados Esperados

### Tejidos normales

Debido a los bajos niveles de la proteína p53 en tejidos normales, la tinción con p53 (DO-7) es débil en el núcleo de las células de la cripta mucosa y en los agregados linfoides del intestino, las células epiteliales basales del cuello del útero y la tonsila, los centros germinales de la tonsila, los neumocitos del pulmón, los queratinocitos de la epidermis, los túbulos seminíferos de los testículos y en la pituitaria y las glándulas adrenales. (Número total de casos normales con tinción = 84).

### Tejidos tumorales

El clon DO-7 tiñó 56 de los 86 tumores evaluados, incluidos tumores de mama (28/41, incluidos 26/38 carcinomas ductales, 1/1 tumor filoides, 1/1 citosarcoma filoides y 0/1 carcinoma medular atípico), tumores de ovario (4/5, incluidos 2/2 carcinomas serosos, 1/1 carcinoma mucinoso, 1/1 carcinoma de células claras y 0/1 tumor de células germinales), tumores pulmonares (3/4, incluidos 2/3 carcinomas de células no pequeñas y 1/1 carcinomas de células escamosas), carcinomas papilares tiroideos (2/4), tumores hepáticos (2/4), carcinomas de células escamosas de la lengua (2/2), tumores metastásicos de origen desconocido (2/2), adenocarcinomas de colon (3/3), adenocarcinomas rectales (2/2), tumores cerebrales (1/2), carcinomas de células escamosas del esófago (1/2), adenocarcinomas de estómago (1/2), tumores del tejido blando (1/2), carcinomas de células renales (1/2), carcinomas de células escamosas del cuello del útero (1/2), tumores cutáneos (1/2), carcinoma endometriode uterino (1/1), seminomas testiculares (0/2), carcinoma de células escamosas de la laringe (0/1) y un tumor carcinóide atípico de timo (0/1). (Número total de casos de tumores evaluados = 86).

**El p53 (DO-7) está recomendado para la detección de la proteína p53 humana en tejidos normales y neoplásicos, como complemento de la histopatología tradicional con tinciones histoquímicas no inmunológicas.**

## Limitaciones Específicas del Producto

p53 (DO-7) se ha optimizado en Leica Biosystems para su uso con BOND Polymer Refine Detection y reactivos auxiliares BOND. Los usuarios que se aparten de los procedimientos de análisis recomendados deben asumir la responsabilidad de interpretar los resultados del paciente tomando en cuenta estas circunstancias. Los tiempos de protocolo pueden diferir debido a la variación en la fijación de los tejidos y a la eficacia en la preservación del antígeno, y deben determinarse empíricamente. Se debe utilizar reactivos de control negativos a la hora de optimizar las condiciones de detección y los tiempos de protocolo.

## Resolución de Problemas

Consulte la referencia 3 para ver las acciones correctoras.

Contacte con su distribuidor local o la oficina regional de Leica Biosystems para informar de cualquier tinción anómala.

## Más Información

Para obtener más información sobre inmunotinciones con reactivos BOND, consulte los apartados Principio del procedimiento, Material necesario, Preparación de las muestras, Control de calidad, Verificación del análisis, Interpretación de la tinción, Clave de símbolos en las etiquetas y Limitaciones generales de la sección "Utilización de reactivos BOND" de la documentación de usuario suministrada por BOND.

## Bibliografía

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.



10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology*. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brothrick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology & Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

### **Fecha de Publicación**

03 de octubre de 2018

# Anticorpo Primário Pronto A Usar BOND™ p53 (DO-7)

Nº de catálogo: PA0057

## Utilização Previsto

*Este reagente destina-se a utilização diagnóstica in vitro.*

O anticorpo monoclonal p53 (DO-7) destina-se a ser utilizado na identificação qualitativa por microscopia óptica da proteína p53 humana em tecidos fixos com formalina e incluídos em parafina por coloração imunohistoquímica utilizando o sistema BOND automatizado (inclui o sistema Leica BOND-MAX e o sistema Leica BOND-III).

A interpretação clínica de qualquer coloração ou da sua ausência deve ser complementada por estudos morfológicos utilizando controlos adequados, e deve ser avaliada no contexto da história clínica do doente e de outros testes complementares de diagnóstico por um anátomo-patologista qualificado.

## Resumo e Explicação

As técnicas de imunohistoquímica podem ser usadas para demonstrar a presença de antígenos em tecidos e células (ver "Usar os Reagentes BOND" na sua documentação do utilizador BOND). O anticorpo primário p53 (DO-7) consiste num produto pronto usar que foi especificamente otimizado para utilização com BOND Polymer Refine Detection. A demonstração da proteína p53 humana é obtida por, primeiro, permitindo a ligação de p53 (DO-7) à secção e visualizando-a posteriormente utilizando os reagentes fornecidos no sistema de detecção. A utilização destes produtos, em combinação com o sistema BOND automatizado, reduz a possibilidade de erro humano e da variabilidade inerente resultante da diluição do reagente individual, pipetagem manual e aplicação de reagente.

## Reagentes Fornecidos

p53 (DO-7) é um anticorpo monoclonal anti-humano de ratinho produzido como sobrenadante de cultura tecidual e fornecido em solução salina com tampão Tris com proteína transportadora, contendo 0,35% de ProClin™ 950 como conservante.

Volume total = 7 mL.

## Clone

DO-7.

## Imunogénio

Proteína p53 de tipo selvagem recombinante humana.

## Especificidade

A proteína p53 de tipo selvagem humana e mutante forma-se em condições de desnaturação e de não desnaturação.

## Subclasse

IgG2b.

## Concentração de Proteínas Totais

Aproximadamente 10 mg/mL.

## Concentração de Anticorpos

Maior ou igual a 0,06 mg/L conforme determinado por ELISA.

## Diluição e Mistura

O anticorpo primário p53 (DO-7) apresenta-se com uma diluição ideal para utilização no sistema BOND. Não é necessária reconstituição, mistura, diluição ou titulação deste reagente.

## Materiais Necessários Mas Não Fornecidos

Consultar "Utilizar os reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND para uma lista completa de materiais necessários para tratamento de amostras e coloração imunohistoquímica utilizando o sistema BOND.

## Armazenamento e Estabilidade

Armazene a uma temperatura de 2–8 °C. Não utilize após o fim do prazo de validade referido no rótulo do recipiente.

Os sinais que indicam contaminação e/ou instabilidade do p53 (DO-7) são: turvação da solução, desenvolvimento de odor e presença de precipitado.

Coloque entre 2–8 °C imediatamente depois de utilizar.

Condições de armazenamento diferentes das acima especificadas devem ser confirmadas pelo utilizador <sup>1</sup>.

## Precauções

- Este produto destina-se a utilização diagnóstica in vitro.
- A concentração de ProClin™ 950 é de 0,35%. Contém o ingrediente activo 2-metil-4-isotiazolina-3-a e pode provocar irritação da pele, olhos, membranas mucosas e vias aéreas superiores. Use luvas descartáveis quando manipular os reagentes. Use luvas descartáveis quando manipular os reagentes.
- Para obter uma cópia da Ficha de Dados de Segurança do Material, entre em contacto com o seu distribuidor local ou sucursal regional da Leica Biosystems ou, em alternativa, visite o site da Leica Biosystems na internet, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- As amostras, antes e depois da fixação, e todo o material que a elas seja exposto, devem ser manipulados como se fossem capazes de transmitir infecção e eliminados usando as precauções adequadas<sup>2</sup>. Nunca pipete reagentes com a boca e evite o contacto entre a pele e membranas mucosas com reagentes ou amostras. Se reagentes ou amostras entrarem em contacto com os olhos, lave-os com uma quantidade abundante de água. Consultar um médico.
- Consulte os regulamentos federais, estaduais e locais relativamente à eliminação de quaisquer componentes potencialmente tóxicos.
- Minimize a contaminação microbiana dos reagentes ou poderá ocorrer um aumento da coloração inespecífica.
- A utilização de tempos e temperaturas de recuperação e incubação diferentes dos especificados pode produzir resultados erróneos. Qualquer alteração deste tipo deve ser validada pelo utilizador.

## Instruções de Utilização

O anticorpo primário p53 (DO-7) foi desenvolvido para utilização no sistema BOND automatizado em combinação com a BOND Polymer Refine Detection. O protocolo de coloração indicado para o anticorpo primário p53 (DO-7) é o IHC Protocol F. Recomenda-se a recuperação de epitopos induzida por calor utilizando a BOND Epitope Retrieval Solution 2 durante 20 minutos.

## Resultados Esperados

### Tecidos normais

Devido a níveis reduzidos da proteína p53 em tecidos normais, a coloração com p53 (DO-7) é fraca no núcleo de células de cripta de mucosa e agregados linfóides nos intestinos, células epiteliais basais do colo do útero e amígdalas, centros germinativos das amígdalas, pneumócitos no pulmão, queratinócitos da epiderme, túbulos seminíferos dos testículos e nas glândulas pituitária e adrenal. (Número total de casos normais corados = 84).

### Tecidos tumorais

O clone DO-7 corou 56 dos 86 tumores avaliados, incluindo tumores mamários (28/41, incluindo 26/38 carcinomas ductais, 1/1 tumor filóide, 1/1 cistosarcoma filóide e 0/1 carcinoma medular atípico), tumores ovários (4/5, incluindo 2/2 carcinomas serosos, 1/1 carcinoma mucinoso, 1/1 carcinoma de células claras, e 0/1 tumor de células germinais), tumores pulmonares (3/4, incluindo 2/3 carcinomas de células não-pequenas e 1/1 carcinomas de células escamosas), carcinomas papilares da tiróide (2/4), tumores hepáticos (2/4), carcinomas de células escamosas da língua (2/2), tumores metastáticos de origem desconhecida (2/2), adenocarcinomas do cólon (3/3), adenocarcinomas retais (2/2), tumores cerebrais (1/2), carcinomas de células escamosas do esófago (1/2), adenocarcinomas do estômago (1/2), tumores dos tecidos moles (1/2), carcinomas de células renais (1/2), carcinomas de células escamosas do colo do útero (1/2), tumores de pele (1/2), carcinoma do endométrio uterino (1/1), seminomas testiculares (0/2), carcinoma de células escamosas da laringe (0/1) e um tumor carcinóide atípico do timo (0/1). (Número total de casos de tumor avaliados = 86).

**O p53 (DO-7) é recomendado para a deteção da proteína p53 humana em tecidos normais e neoplásicos, como auxiliar da histopatologia convencional, através da utilização de corantes histoquímicos não imunológicos.**

## Informações Específicas do Produto

p53 (DO-7) foi otimizado na Leica Biosystems para utilização com a BOND Polymer Refine Detection e reagentes auxiliares BOND. Utilizadores que se desviem dos procedimentos de teste recomendados devem assumir a responsabilidade pela interpretação dos resultados dos doentes nestas circunstâncias. Os tempos de protocolo podem variar, devido a variações na fixação tecidual e na eficácia de valorização com antígenios, devendo ser determinados de forma empírica. Os controlos de reagente negativos devem ser usados quando se optimizam as condições de recuperação e os tempos do protocolo.

## Resolução de Problemas

Consulte a referência 3 para acções de resolução.

Entre em contacto com o seu distribuidor local ou com a sucursal regional da Leica Biosystems para notificar qualquer coloração pouco habitual.

## Mais Informações

Poderá encontrar informações adicionais sobre imunocoloração com reagentes BOND nas secções de Princípios do Procedimento, Material Necessário, Preparação da Amostra, Controlo de Qualidade, Verificação do Ensaio, Interpretação da Coloração, Significado dos Símbolos nos Rótulos e Limitações Gerais em "Utilizar os Reagentes BOND" na documentação do utilizador BOND.

## Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.

10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology*. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brothrick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology & Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

#### **Data de Emissão**

03 de Outubro de 2018

# BOND™ Primär antikropp - färdig att användas p53 (DO-7)

Artikelnummer: PA0057

## Användningsområde

*Reagenset är avsett för in vitro-diagnostik.*

p53 (DO-7) monoklonala antikroppar är avsedda att användas för kvalitativ bestämning i ljusmikroskopi av humant p53-protein i formalinfixerad, paraffinbäddad vävnad, genom immunhistokemisk färgning i det automatiska systemet BOND (inkluderar Leica BOND-MAX-systemet och Leica BOND-III-systemet).

Den kliniska tolkningen av varje infärgning, eller utebliven infärgning, måste alltid kompletteras med morfologiska studier och lämpliga kontroller. Utvärderingen bör göras av kvalificerad patolog och inkludera patientens anamnes och övriga diagnostiktester.

## Förklaring och Sammanfattning

Immunhistokemiska tekniker kan användas för att påvisa antigener i vävnader och celler (se "Använda BOND-reagens" i BOND användar- dokumentationen). p53 (DO-7) primär antikropp är en produkt, färdig att användas, som har optimerats specifikt för att användas med BOND Polymer Refine Detection. Humant p53-protein påvisas genom att p53 (DO-7) tillåts bindas till snittet och sedan visualiseras denna bindning med hjälp av reagenserna i testsystemet. När dessa produkter används i kombination med det automatiserade BOND-systemet reduceras möjligheterna att göra fel och den inreboende variabiliteten, till följd av enskilda reagensutspädningar, manuell pipettering och hur reagenserna används, minskar.

## Ingående Reagenser

p53 (DO-7) är en mus anti-human monoklonal antikropp, producerad som supernatant från cellkultur. Den levereras i trisbuffrad koksaltlösning med bärarprotein. Lösningen innehåller 0,35% ProClin™ 950 som konserveringsmedel.

Total volym = 7 ml.

## Klon

DO-7.

## Immunogen

Rekombinant humant p53-protein av vildtyp.

## Specifitet

Humant p53-protein av vildtyp och mutanta former under båda denaturerande och icke-denaturerande förhållanden.

## Undergrupp

IgG2b.

## Total Proteinkoncentration

Omkring 10 mg/ml.

## Antikropps-koncentration

Större än eller lika med 0,06 mg/l enligt bestämning med ELISA.

## Spädning och Blandning

p53 (DO-7) primär antikropp är optimalt utspädd för att användas med BOND-systemet. Denna reagens behöver inte rekonstrueras, blandas, spädas eller titreras.

## Nödvändig Materiel Som Ej Medföljer

I "Använda BOND-reagens" i BOND-användardokumentationen finns en fullständig lista med den materiel du behöver för att behandla ett prov och göra en immunhistokemisk färgning med BOND-systemet.

## Förvaring och Stabilitet

Förvara vid 2–8 °C. Använd ej efter utgångsdatum som står på förpackningen

Tecken på kontaminering och/eller instabilitet hos p53 (DO-7) är grumling i lösningen, luktutveckling och förekomst av fällning.

Ställ tillbaka i 2–8 °C omedelbart efter användning.

Andra förvaringsbetingelser än de ovan angivna måste verifieras av användaren<sup>1</sup>.

## Säkerhetsföreskrifter

- Produkten är avsedd för in vitro-diagnostik.
- Koncentrationen av ProClin™ 950 är på 0,35%. Det innehåller den aktiva beståndsdelen 2-metyl-4-isotiazolin-3-on som kan verka irriterande på hud, ögon, slemhinnor och övre luftvägar. Använd engångshandskar när reagenserna hanteras.
- Du kan få tillgång till säkerhetsdatablad genom att kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor. En annan möjlighet är Leica Biosystems webbsajt på [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- Prover, både före och efter fixeringen, och allt material som använts tillsammans med dem ska hanteras som infektiöst avfall enligt gängse praxis<sup>2</sup>. Pipettera aldrig reagenser med munnen och undvik att reagenser eller prover kommer i kontakt med hud och slemhinnor. Om reagenser eller prover kommer i kontakt med känsliga områden, skölj med stora mängder vatten. Sök läkarvård
- Angående avfallshantering av potentiellt toxiska material hänvisar vi till gällande europeiska, nationella och lokala bestämmelser och förordningar.

- Minimera mikrobiologisk kontamination av reagens, annars kan en ökad icke-specifik infärgning bli resultatet.
- Återvinnande och andra inkubationstider eller temperaturer än de angivna kan ge felaktiga resultat. Sådana förändringar ska valideras av användaren.

## Instruktioner vid Användning

p53 (DO-7) primär antikropp har utveckats för att användas med det automatiserade BOND-systemet i kombination med BOND Polymer Refine Detection. Rekommenderat färgningsprotokoll för p53 (DO-7) primär antikropp är IHC Protocol F. Värmeinducerat epitopt återvinnande rekommenderas. Använd då BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minuter.

## Förväntade Resultat

### Normala vävnader

På grund av låga nivåer av p53 protein i normala vävnader, är färgning av p53 (DO-7) svag i kärnan hos slemhinnekryptceller och lymfoida aggregat från tunntarm, basala epiteliala celler från cervix och tonsill, germinalcentra från tonsill, pneumocyter från lunga, keratinocyter från epidermis, sädeskanaler från testiklar samt i hypofys och binjurar. (Totalt antal normala fall som utvärderats = 84).

### Tumörvävnader

Klonen DO-7 färgade 56/86 utvärderade tumörer, däribland brösttumörer (28/41, inklusive 26/38 ductala carcinom, 1/1 phylloides tumör, 1/1 phylloides cytosarkom och 0/1 atypiskt medullärt carcinom), ovarala tumörer (4/5, inklusive 2/2 serösa carcinom, 1/1 mucinösa carcinom, 1/1 klarcellscarcinom och 0/1 germinalcellstumör), lungtumörer (3/4, inklusive 2/3 icke småcelliga carcinom och 1/1 skivepitelskarcinom), papillära carcinom från sköldkörtel (2/4), levertumörer (2/4), skivepitelscancer från tunga (2/2), metastatiska tumörer av okänt ursprung (2/2), adenokarcinom från kolon (3 / 3), adenokarcinom från rektum (2/2), hjärntumörer (1/2), skivepitelskarcinom från matstrupen (1/2), adenokarcinom från magsäck (1/2), tumörer från mjuk vävnad (1/2 ), njurcellscarcinom (1/2), skivepitelskarcinom från livmoderhals (1/2), hudtumörer (1/2), slemhinnekarcinom från livmoder (1/1), testikulära seminom (0/2), skivepitelskarcinom från struphuvud (0/1) och atypiska karcinoida tumörer från thymus (0/1). (Totalt antal fall av tumörer som utvärderats = 86).

**p53 (DO-7) rekommenderas för detektering av humant p53 protein i normal eller neoplastisk vävnad, som tillägg till konventionell histopatologi med användande av icke-immunologiska histokemiska färgstoffer.**

## Specifika Begränsningar För Produkten

p53 (DO-7) har optimerats vid Leica Biosystems för att användas med BOND Polymer Refine Detection och BOND hjälpreagenser. Användare som avviker från rekommenderat testförfarande måste vid ändrade förhållanden ta ansvar för tolkningen av patientresultaten. Protokolltiderna kan variera på grund av variationer i vävnadsfixering och hur effektivt antigenet intensifieras, och ska fastställas empiriskt. Negativa reagenskontroller ska användas då förhållanden för återvinnande och protokolltider optimeras.

## Felsökning

Se referens 3 för förslag till åtgärder.

Kontakta en lokal distributör eller Leica Biosystems regionkontor för att rapportera onormal infärgning.

## Mer Information

Mer information om immunfärgning med BOND-reagens finns under rubrikerna Bakgrund till metoden, Nödvändig material, Förbereda provet, Kvalitetskontroll, Verifiering av assayer, Tolka infärgningsresultat, Symbolförklaring för etiketter och Allmänna begränsningar i "Använda BOND-reagens" i BOND användardokumentation.

## Litteraturförteckning

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code: M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. Archivos Espanoles de Urologia. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. Journal of Pathology. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. Cancer Immunology & Immunotherapy. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. Journal of Pathology. 1995; 177:129–134.

15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

### **Utgivningsdatum**

03 oktober 2018

# Έτοιμο Για Χρήση Πρωτογενές Αντίσωμα BOND™ p53 (DO-7)

## Αρ. καταλόγου: PA0057

### Σκοπός Χρήσης

Αυτό το αντιδραστήριο προορίζεται για διαγνωστική χρήση *in vitro*.

Το μονοκλωνικό αντίσωμα p53 (DO-7) προορίζεται για χρήση για την ποιοτική ταυτοποίηση με μικροσκοπία φωτός της ανθρώπινης πρωτεΐνης p53 σε μονιμοποιημένο σε φορμόλη και ενσωματωμένο σε παραφίνη ιστό με ανοσοϊστοχημική χρώση, με χρήση του αυτοματοποιημένου συστήματος BOND (περιλαμβάνει το σύστημα Leica BOND-MAX και το σύστημα Leica BOND-III).

Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε χρώσης ή της απουσίας της θα πρέπει να συμπληρώνεται με μορφολογικές μελέτες και σωστούς μάρτυρες και θα πρέπει να αξιολογείται στα πλαίσια του κλινικού ιστορικού του ασθενούς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων από ειδικευμένο παθολογοανατόμο.

### Περίληψη Και Επεξήγηση

Για την κατάδειξη της παρουσίας αντιγόνων στον ιστό και στα κύτταρα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ανοσοϊστοχημικές τεχνικές (δείτε την ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND). Το πρωτογενές αντίσωμα p53 (DO-7) είναι ένα έτοιμο για χρήση προϊόν που έχει βελτιστοποιηθεί ειδικά για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection. Η κατάδειξη της ανθρώπινης πρωτεΐνης p53 επιτυγχάνεται πρώτα, επιτρέποντας τη δέσμευση του p53 (DO-7) στην τομή και κατόπιν απεικονίζοντας τη δέσμευση αυτή με χρήση των αντιδραστηρίων που παρέχονται στο σύστημα ανίχνευσης. Η χρήση των προϊόντων αυτών, σε συνδυασμό με το αυτοματοποιημένο σύστημα BOND, μειώνει την πιθανότητα ανθρώπινου σφάλματος και εγγενούς μεταβλητότητας, η οποία προκύπτει από την αραίωση μεμονωμένων αντιδραστηρίων, μη αυτόματη διανομή με πιπέτα και εφαρμογή αντιδραστηρίων.

### Αντιδραστήρια Που Παρέχονται

Η p53 (DO-7) είναι ένα μονοκλωνικό αντι-ανθρώπινο αντίσωμα ποντικού που παράγεται ως υπερκείμενο ιστοκαλλιέργειας και παρέχεται σε αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα Tris με πρωτεΐνη φορέα που περιέχει 0,35% ProClin™ 950 ως συντηρητικό.

Συνολικός όγκος = 7 mL.

### Κλώσος

DO-7.

### Ανοσογόνο

Ανασυνδυασμένη ανθρώπινη πρωτεΐνη p53 άγριου τύπου.

### Ειδικότητα

Ανθρώπινη πρωτεΐνη p53 άγριου τύπου και μεταλλαγμένες μορφές σε συνθήκες τόσο μετουσίωσης όσο και μη μετουσίωσης.

### Υποκατηγορία

IgG2b.

### Συνολική Συγκέντρωση Πρωτεΐνης

Περίπου 10 mg/mL.

### Αραίωση Και Ανάμιξη

Μεγαλύτερη ή ίση με 0,06 mg/L όπως προσδιορίζεται με ELISA.

### Αραίωση Και Ανάμιξη

Το πρωτογενές αντίσωμα p53 (DO-7) αραιώνεται βέλτιστα για χρήση στο σύστημα BOND. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμιξη, αραίωση ή ηπλοδότηση του αντιδραστηρίου αυτού.

### Υλικά Που Απαιτούνται Αλλά Δεν Παρέχονται

Για μια πλήρη λίστα των υλικών που απαιτούνται για την επεξεργασία δειγμάτων και την ανοσοϊστοχημική χρώση με τη χρήση του συστήματος BOND, ανατρέξτε στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

### Υλικά Που Απαιτούνται Αλλά Δεν Παρέχονται

Φυλάσσετε στους 2–8 °C. Μη χρησιμοποιείτε μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του περιέκτη.

Οι ενδείξεις που υποδηλώνουν μόλυνση ή/και αστάθεια της p53 (DO-7) είναι: θολερότητα του διαλύματος, ανάπτυξη οσμής και παρουσία ιζήματος.

Επαναφέρετε το προϊόν στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση.

Συνθήκες φύλαξης εκτός από αυτές που καθορίζονται παραπάνω πρέπει να επαληθεύονται από τον χρήστη<sup>1</sup>.

### Προφυλάξεις

- Το προϊόν αυτό προορίζεται για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Η συγκέντρωση του ProClin™ 950 είναι 0,35%. Περιέχει το δραστικό συστατικό 2-μεθυλ-4-ισοθαζολιν-3-όνη και ενδέχεται να προκαλέσει ερεθισμό στο δέρμα, τους οφθαλμούς, τους βλεννογόνους και την άνω αναπνευστική οδό. Φοράτε αναλώσιμα γάντια κατά το χειρισμό των αντιδραστηρίων.
- Για να λάβετε ένα αντίτυπο του δελτίου δεδομένων ασφαλείας υλικού, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία της Leica Biosystems ή, εναλλακτικά, επισκεφθείτε τον ιστότοπο της Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- Τα δείγματα, πριν και μετά τη μονιμοποίηση, καθώς και όλα τα υλικά που εκτίθενται σε αυτά, πρέπει να υποβάλλονται σε χειρισμό ως δυνητικά μεταδόσης λοίμωξης και να απορρίπτονται με κατάλληλες προφυλάξεις<sup>2</sup>. Μην αναρροφάτε ποτέ με πιπέτα τα αντιδραστήρια με το στόμα και αποφεύγετε την επαφή του δέρματος και των βλεννογόνων με αντιδραστήρια ή δείγματα. Εάν τα αντιδραστήρια ή τα δείγματα έλθουν σε επαφή με ευαίσθητες περιοχές, πλύνετε με άφθονες ποσότητες νερού. Ζητήστε τη συμβουλή ιατρού.
- Συμβουλευτείτε τους ομοσπονδιακούς, πολιτικούς ή τοπικούς κανονισμούς για απόρριψη τυχόν δυνητικών τοξικών συστατικών.



- Ελαχιστοποιήστε τη μικροβιακή μόλυνση των αντιδραστηρίων, διότι διαφορετικά ενδέχεται να αυξηθεί η μη ειδική χρώση.
- Ανάκτηση, χρόνοι ή θερμοκρασίες επίασης διαφορετικές από εκείνες που καθορίζονται ενδέχεται να δώσουν εσφαλμένα αποτελέσματα. Τυχόν τέτοια μεταβολή πρέπει να επικυρώνεται από το χρήστη.

## Οδηγίες Χρήσης

Το πρωτογενές αντίσωμα p53 (DO-7) αναπτύχθηκε για χρήση στο αυτοματοποιημένο σύστημα BOND σε συνδυασμό με το BOND Polymer Refine Detection. Το συνιστώμενο πρωτόκολλο χρώσης για το πρωτογενές αντίσωμα p53 (DO-7) είναι το IHC Protocol F. Συνιστάται θερμικά επαγόμενη ανάκτηση επιτόπου με χρήση του BOND Epitope Retrieval Solution 2 επί 20 λεπτά.

## Αναμενόμενα Αποτελέσματα

### Φυσιολογικοί ιστοί

Λόγω των χαμηλών επιπέδων της πρωτεΐνης p53 σε φυσιολογικούς ιστούς, η χρώση με το p53 (DO-7) είναι ασθενής στους πυρήνες των βλεννογόνων κρυπτικών κυττάρων και στα λεμφοειδή συσσωματώματα του εντέρου, στα βασικά επιθηλιακά κύτταρα του τραχήλου και της αμυγδαλής, στα βασικά κέντρα της αμυγδαλής, στα πνευμονοκύτταρα στον πνεύμονα, στα κερατινοκύτταρα της επιδερμίδας, στα σπερματοφόρα σωληνάρια του όρχεως και στην υπόφυση και στα επινεφρίδια. (Συνολικός αριθμός φυσιολογικών δειγμάτων που χρωματίστηκαν = 84)

### Νεοπλασματικοί ιστοί

Ο κλώνος DO-7 χρωμάτισε 56/86 όγκους προς αξιολόγηση, στους οποίους περιλαμβάνονταν όγκοι του μαστού (28/41, μεταξύ των οποίων 26/38 πορογενή καρκινώματα, 1/1 φυλλοειδής όγκος, 1/1 φυλλοειδές κυστεοσάρκωμα και 0/1 άτυπο μυελοειδές καρκίνωμα), όγκοι στις ωοθήκες (4/5, μεταξύ των οποίων 2/2 ορώδη καρκινώματα, 1/1 βλεννώδες καρκίνωμα, 1/1 διαυκοκυτταρικό καρκίνωμα και 0/1 όγκος γεννητικών κυττάρων), όγκοι του πνεύμονα (3/4, μεταξύ των οποίων 2/3 μη μικροκυτταρικά καρκινώματα και 1/1 καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων), θηλώδη καρκινώματα του θυρεοειδούς (2/4), όγκοι του ήπατος (2/4), καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων της γλώσσας (2/2), μεταστατικοί όγκοι αγνώστου προέλευσης (2/2), αδενοκαρκινώματα του παχέος εντέρου (3/3), αδενοκαρκινώματα του ορθού (2/2), όγκοι του εγκεφάλου (1/2), καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων του οισοφάγου (1/2), αδενοκαρκινώματα του στομάχου (1/2), όγκοι μαλακών μορίων (1/2), νεφροκυτταρικά καρκινώματα (1/2), καρκινώματα εκ πλακωδών κυττάρων του τραχήλου (1/2), όγκοι του δέρματος (1/2), ενδοθηλιοειδές καρκίνωμα της μήτρας (1/1), σεμινώματα των όρχεων (0/2), καρκίνωμα εκ πλακωδών κυττάρων του λάρυγγα (0/1) και άτυπος καρκινοειδής όγκος του θύμου (0/1). (Συνολικός αριθμός όγκων στα δείγματα που αξιολογήθηκαν = 86).

**Το p53 (DO-7) συνιστάται για την ανίχνευση της ανθρώπινης πρωτεΐνης p53 σε φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ιστούς, ως συμπλήρωμα της συμβατικής ιστοπαθολογίας χρησιμοποιώντας μη ανοσολογικές ιστοχημικές χρώσεις.**

## Ειδικοί Περιορισμοί Του Προϊόντος

Το p53 (DO-7) έχει βελτιστοποιηθεί στην Leica Biosystems για χρήση με το BOND Polymer Refine Detection και τα βοηθητικά αντιδραστήρια BOND. Χρήστες που αποκλίνουν από τις συνιστώμενες διαδικασίες εξέτασης πρέπει να αποδεχονται την ευθύνη για ερμηνεία των αποτελεσμάτων ασθενών υπό τις συνθήκες αυτές. Οι χρόνοι του πρωτοκόλλου ενδέχεται να διαφέρουν, λόγω της μεταβλητότητας της μονιμοποίησης του ιστού και της αποτελεσματικότητας ενίσχυσης των ανιγόνων και πρέπει να προσδιορίζονται εμπειρικά. Κατά τη βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάκτησης και των χρόνων πρωτοκόλλου, πρέπει να χρησιμοποιούνται αρνητικοί μάρτυρες αντιδραστηρίων.

## Αντιμέτωπη Προβλημάτων

Σχετικά με τις διορθωτικές ενέργειες, ανατρέξτε στην παραπομπή 3.

Για να αναφέρετε περιπτώσεις ασυνήθιστης χρώσης, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή τα περιφερειακά γραφεία της Leica Biosystems.

## Πρόσθετες Πληροφορίες

Μπορείτε να βρείτε περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την ανοσοχρώση με αντιδραστήρια BOND, υπό τους τίτλους Αρχή της διαδικασίας, Απαιτούμενα υλικά, Προετοιμασία δείγματος, Ποιοτικός έλεγχος, Επαλήθευση προσδιορισμού, Ερμηνεία της χρώσης, Υπόμνημα για τα σύμβολα στις ετικέτες και Γενικοί περιορισμοί στην ενότητα "Χρήση αντιδραστηρίων BOND" στο υλικό τεκμηρίωσης χρήσης της BOND.

## Βιβλιογραφία

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Home GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. Archivos Espanoles de Urologia. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. Journal of Pathology. 1997; 183:418–423.
13. Brothrick L, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. Cancer Immunology & Immunotherapy. 1995; 41(3):146–150.

14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

## **Ημερομηνία Έκδοσης**

03 Οκτωβρίου 2018

# BOND™ Brugsklart Primaert Antistof p53 (DO-7)

Katalognummer.: PA0057

## Tilsigtet Anvendelse

*Dette reagens er beregnet til brug i in vitro-diagnostik.*

Monoklonalt p53 (DO-7)-antistof er beregnet til brug til kvalitativ identifikation med lysmikroskopi af humant p53-protein i formalinfikserede, paraffinindstøbte væv vha. immunhistokemisk farvning med brug af det automatiske BOND-system (herunder Leica BOND-MAX system og Leica BOND-III system).

Den kliniske fortolkning af enhver farvning eller fravær af samme skal ledsages af morfologiske undersøgelser og egnede kontroller og skal evalueres af en uddannet patolog i konteksten af patientens anamnese samt andre diagnostiske prøver.

## Resumé og Forklaring

Immunhistokemiske teknikker kan anvendes til at påvise tilstedeværelse af antigener i væv og celler (se "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen). Primært p53 (DO-7)-antistof er et brugsklart produkt, som er blevet optimeret specielt til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen af humant p53-protein er opnået ved først at lade p53 (DO-7) binde sig til præparatet og derefter visualisere denne binding ved brug af de reagenser, der leveres med detektionssystemet. Brugen af disse produkter sammen med det automatiske BOND-system reducerer risikoen for menneskelige fejl og den iboende variabilitet, der følger af individuel reagensfortynding, manuel pipettering og reagensapplikation.

## Leverede Reagenser

p53 (DO-7) er et murint antihumant monoklonalt antistof produceret som en vævskultursupernatant og leveret i Tris-bufferjusteret saltvandsopløsning med bæreprøtein indeholdende 0,35% ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalt volumen = 7 ml.

## Klon

DO-7.

## Immunogen

Rekombinant humant vildtype p53-protein.

## Specifitet

Humant vildtype p53-protein og mutante former under både denaturerende og ikke-denaturerende forhold.

## Underklasse

IgG2b.

## Total Proteinkoncentration

Ca. 10 mg/mL.

## Antistofkoncentration

Større end eller lig med 0,06 mg/L som bestemt med ELISA.

## Fortynding og Blanding

Primært p53 (DO-7)-antistof er optimalt fortyndet til brug på BOND-systemet. Rekonstitution, blanding, fortynding eller titrering af dette reagens er ikke påkrævet.

## Nødvendige Materialer, der ikke Medfølger

Der henvises til "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen for en komplet liste over materialer, der er nødvendige til præparatbehandling og immunhistokemisk farvning ved hjælp af BOND-systemet.

## Opbevaring og Stabilitet

Opbevares ved 2–8 °C. Må ikke anvendes efter udløbsdatoen, der er angivet på beholderens etiket.

De tegn, der indikerer, at p53 (DO-7) er kontamineret og/eller ustabil, omfatter turbiditet af opløsningen, lugtudvikling og tilstedeværelse af præcipitat.

Sættes tilbage til opbevaring ved 2–8 °C umiddelbart efter brug.

Opbevaringsbetingelser, der adskiller sig fra de oven for specificerede, skal verificeres af brugeren<sup>1</sup>.

## Forholdsregler

- Dette produkt er beregnet til brug i in vitro-diagnostik.
- Koncentrationen af ProClin™ 950 er 0,35%. Det indeholder det aktive indholdsstof 2-methyl-4-isothiazolin-3-one og kan forårsage irritation af hud, øjne, slimhinder og øvre luftveje. Der skal anvendes handsker ved håndtering af reagenser.
- En kopi af sikkerhedsdatabladet (MSDS) kan fås ved henvendelse til den lokale distributør eller til Leica Biosystems' regionale kontor. Det kan tillige hentes på Leica Biosystems' hjemmeside [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

- Præparater, både før og efter fiksering, samt alle øvrige materialer, der eksponeres for disse, skal håndteres som værende i stand til at overføre infektion og skal bortskaffes under iagttagelse af passende forholdsregler<sup>2</sup>. Afipetter ikke reagenser med munden, og undgå at reagenser og præparater kommer i kontakt med hud og slimhinder. Hvis reagenser eller præparater kommer i kontakt med følsomme områder, skal disse vaskes med rigelige mængder vand. Søg læge.
- Bortskaffelse af potentielt toksiske komponenter skal ske i overensstemmelse med gældende statslig eller lokal lovgivning.
- Mikrobiel kontamination af reagenser skal minimeres for at undgå en øget ikke-specifik farvning.
- Genfindning, inkubationstider eller -temperaturer ud over de specificerede kan give fejlagtige resultater. Enhver ændring af denne art skal valideres af brugeren.

## Brugsanvisning

p53 (DO-7) Primary Antibody er udviklet til brug på det automatiske BOND-system sammen med BOND Polymer Refine Detection. Den anbefalede farvningsprotokol for p53 (DO-7) Primary Antibody er IHC Protocol F. Varmeinduceret epitopgenfindning anbefales ved brug af BOND Epitope Retrieval Solution 2 i 20 minutter.

## Forventede Resultater

### Normale væv

Som følge af lave p53-proteinniveauer i normale væv er farvning med p53 (DO-7) svag i kernen af slimhindeforlydningsceller og lymfeknuder i tarme, epiteliale basalceller i cervix og tonsiller, tonsillers kimcentre, pneumocytter i lunger, keratinocytter i epidermis, seminiferøse testisrør samt i hypofyse og binyrer. (Samlet antal farvede normale tilfælde = 84).

### Tumorstø

Klon DO-7 farvede 56/86 evaluerede tumorer, inklusive brysttumorer (28/41, inklusive 26/38 ductale karcinomer, 1/1 phylloides tumor, 1/1 phylloides cytosarkom og 0/1 atypisk medullært karcinom), ovariale tumorer (4/5, inklusive 2/2 serøse karcinomer, 1/1 slimhindekarcinom, 1/1 klart cellekarcinom og 0/1 kimcelletumor), lungetumorer (3/4, inklusive 2/3 ikke-små cellekarcinomer og 1/1 pladecellekarcinomer), papillære thyroideakarcinomer (2/4), levertumorer (2/4), pladecellekarcinomer på tungen (2/2), metastatiske tumorer af ukendt oprindelse (2/2), tyktarmsadenokarcinomer (3/3), adenokarcinomer i rektum (2/2), hjernetumorer (1/2), pladecellekarcinomer i øsofagus (1/2), maveadenokarcinomer (1/2), blodvævtumorer (1/2), nyrecellekarcinomer (1/2), pladecellekarcinomer i cervix (1/2), hudtumorer (1/2), uterint endometriekarcinom (1/1), testikelseminomer (0/2), pladecellekarcinom i larynx (0/1) og atypisk karcinoid tumor i thymus (0/1). (Samlet antal evaluerede tumortilfælde = 86).

**p53 (DO-7) anbefales til påvisning af p53-protein i normale og neoplastiske væv, som et hjælpemiddel til traditionel histopatologi ved brug af ikke-immunologiske histokemiske farvninger.**

## Produktspecifikke Begrænsninger

p53 (DO-7) er blevet optimeret hos Leica Biosystems til brug sammen med BOND Polymer Refine Detection og BOND-hjælperreagenser. Brugere, som afviger fra anbefalede test procedurer, må selv tage ansvaret for tolkningen af patientresultater under disse betingelser. Protokolliderne kan variere på grund af variationer i vævsfiksering og effektiviteten af antigenforbedring og skal bestemmes empirisk. Der skal anvendes negative reagenskontroller ved optimering af genfindingsbetingelser og protokollider.

## Fejlfinding

Der henvises til reference 3 for afhjælpende foranstaltninger.

Kontakt den lokale distributør eller Leica Biosystems' regionale kontor for at rapportere usædvanlig farvning.

## Yderligere Oplysninger

Yderligere oplysninger om immunfarvning med BOND-reagenser kan findes i "Anvendelse af BOND-reagenser" i BOND-brugerdokumentationen under overskrifterne Proceduremæssige principper, Nødvendige materialer, Præparatklargøring, Kvalitetskontrol, Analyseverifikation, Fortolkning af farvning, Nøgle til symboler på etiketter og Generelle begrænsninger.

## Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in phaeochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. Archivos Espanoles de Urologia. 1999; 52(8):840–848.

12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology & Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

## **Udgivelsesdato**

03 oktober 2018

# BOND™ Klaar Voor Primaire Antilichaam te Gebruiken p53 (DO-7)

Catalogusnummer.: PA0057

## Beoogd Gebruik

Deze reagens wordt gebruikt voor *in-vitro* -diagnostiek.

p53 (DO-7) monoklonaal antilichaam is bedoeld voor gebruik voor de kwalitatieve identificatie door optische microscopie van menselijk p53-eiwit in formaline gefixeerde en in paraffine ingebedde weefsels door immunohistochemische kleuring met behulp van het geautomatiseerde BOND-systeem (waaronder het Leica BOND-MAX-systeem en het Leica BOND-III-systeem).

De klinische interpretatie van iedere kleuring of de afwezigheid ervan moet worden aangevuld met morfologisch onderzoek en goede controles. De interpretatie moet worden geëvalueerd door een vakkundige patholoog binnen de context van de klinische geschiedenis van de patiënt en eventueel ander diagnostisch onderzoek.

## Samenvatting en Uitleg

Immunohistochemische technieken kunnen gebruikt worden om de aanwezigheid van antilichamen in weefsel en cellen aan te tonen (zie "BOND-reagentia gebruiken" in de gebruikersdocumentatie van BOND). p53 (DO-7) primaire antilichaam is een klaar voor gebruik product dat speciaal geoptimaliseerd is voor het gebruik met BOND Polymer Refine Detection. De demonstratie van menselijk p53-eiwit wordt gerealiseerd door eerst de binding van p53 (DO-7) toe te staan aan de coupe en dan deze binding te visualiseren met behulp van de meegeleverde reagentia in het detectiesysteem. Het gebruik van deze producten in combinatie met het geautomatiseerde BOND-systeem, verkleint de mogelijkheid van een menselijke fout en inherente variabiliteit voortvloeiend uit individuele verdunning van de reagens, handmatig pipetteren en de toepassing van reagens.

## Meegeleverde Reagentia

p53 (DO-7) is een anti-monoklonaal muisantilichaam geproduceerd als een supernatant van de weefselweek, en wordt geleverd in Tris gebufferde saline met draagproteïne, en bevat 0,35 % ProClin™ 950 als conserveringsmiddel.

Totale volume = 7 mL.

## Kloon

DO-7.

## Immunogeen

Recombinant menselijk wildtype p53-eiwit.

## Specificiteit

Menselijk p53-eiwit wildvorm en mutante vormen zowel onder denaturerende en niet-denaturerende omstandigheden.

## Ig-klasse

IgG2b.

## Totale Proteïneconcentratie

Ca. 10 mg/ml.

## Antilichaamconcentratie

Groter of gelijk aan 0.06 mg/L zoals bepaald door ELISA.

## Verdunning en Menging

p53 (DO-7) primaire antilichaam is optimaal verdund voor het gebruik op het BOND-systeem. Reconstitutie, menging, verdunning of titratie van deze reagens is niet vereist.

## Niet Meegeleverde Vereiste Materialen

Raadpleeg "BOND-reagentia gebruiken" in uw documentatie van BOND voor een complete lijst van materialen vereist voor de behandeling van monsters en immunohistochemische kleuring met het BOND-systeem.

## Opslag en Stabiliteit

Opslaan bij temperaturen van 2–8 °C. Niet gebruiken na de expiratiedatum die op het etiket van de container staat.

Tekenen die contaminatie en/of instabiliteit van p53 (DO-7) aangeven zijn: vertroebeling van de oplossing, geurontwikkeling en de aanwezigheid van neerslag.

Laat het systeem direct na gebruik terugkeren naar een temperatuur van 2–8 °C.

Opslagcondities andere dan degene die hierboven gespecificeerd zijn, dienen door de gebruiker geverifieerd te worden<sup>1</sup>.

## Voorzorgsmaatregelen

- Dit product is bedoeld voor *in-vitro* -diagnostiek.
- De concentratie van ProClin™ 950 is 0,35 %. Het bevat het actieve ingrediënt 2-methyl-4-isothiazoline-3-one, en kan irritatie veroorzaken aan de huid, ogen, slijmvlies en het bovenste deel van de luchtwegen. Draag wegwerphandschoenen bij het werken met reagentia.
- Om een kopie van het materiaalveiligheidsblad te verkrijgen, dient u contact op te nemen met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems, of de website van Leica Biosystems te bezoeken: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Monsters moeten voor en na fixatie worden behandeld als potentiële overdragers van infecties en volgens de juiste voorzorgsmaatregelen worden afgedankt. Dit geldt tevens voor alle materialen die aan de monsters zijn blootgesteld<sup>2</sup>. Reagentia mogen nooit met de mond worden gepipetteerd. Daarnaast moet contact tussen de huid/het slijmvlies en reagentia en monsters worden vermeden. Als reagentia of monsters in contact komen met gevoelige gebieden, moet u deze gebieden wassen met een ruime hoeveelheid water. Neem contact op met een arts.
- Raadpleeg de richtlijnen van de lokale of nationale overheid voor het afdanken van potentieel giftige componenten.
- Minimaliseer de kans van microbacteriële contaminatie van reagentia. Als u dit niet doet, kan er een toename van niet-specifieke kleuring optreden.
- Terugwinning, incubatietijden of temperaturen die afwijken van degenen die gespecificeerd zijn, kunnen tot onjuiste resultaten leiden. Iedere dergelijke verandering moet door de gebruiker gevalideerd worden.

## Instructies Voor Gebruik

p53 (DO-7) primaire antilichaam is ontwikkeld voor het gebruik op het geautomatiseerde BOND-systeem in combinatie met BOND Polymer Refine Detection. Het aanbevolen kleuringsprotocol voor p53 (DO-7) primaire antilichaam is IHC Protocol F. Warmtegeïnduceerde herstel van de epitooop wordt aanbevolen volgens BOND Epitope Retrieval Solution 2 gedurende 20 minuten.

## Verwachte Resultaten

### Normale weefsels

Door de lage niveaus van het p53-eiwit in normale weefsels is de kleuring met p53 (DO-7) zwak in de kern van mucosale cryptecellen en lymfoïde aggregaten in de darmen, basale epitheliale cellen van de baarmoederhals en amandelen, germinale centra van de amandelen, pneumocyten in de testesen, keratinocyten van de opperhuid, seminiferuze tubuli van de testes en in de hypofyse en de bijniere(n). (Totaal aantal verkleurde normale gevallen = 84).

### Tumorweefsels

Kloon DO-7 kleurde 56/86 geëvalueerde tumoren, waaronder borsttumoren (28/41, waarvan 26/38 ductale carcinomen, 1/1 phylloides tumor, 1/1 cytosarcoma phylloides en 0/1 atypisch medullair carcinoom), ovariale tumoren (4/5, waarvan 2/2 sereuze carcinomen, 1/1 mucineuze carcinomen, 1/1 'clear cell'-carcinomen en 0/1 kiemceltumor), longtumoren (3/4, waarvan 2/3 niet-kleincellige carcinomen en 1/1 squameuze celcarcinomen), papillaire schildklieradenocarcinomen (2/4), leveradenocarcinomen (2/4), squameuze celcarcinomen van de tong (2/2), metastatische tumoren van onbekende oorsprong (2/2), adenocarcinomen van de dikke darm (3/3), adenocarcinomen van het rectum (2/2), hersentumoren (1/2), squameuze celcarcinomen van de slokdarm (1/2), adenocarcinomen van de maag (1/2), tumoren van de weke delen (1/2), niercelcarcinomen (1/2), squameuze celcarcinomen van de baarmoederhals (1/2), huidtumoren (1/2), baarmoederslijmvliescarcinoom (1/1), testiculaire seminomen (0/2), squameus celcarcinoom van het strottenhoofd (0/1) en atypische carcinoïde tumor van de thymus (0/1). (Totaal aantal geëvalueerde tumorgevallen = 86).

**p53 (DO-7) wordt aanbevolen voor het detecteren van humaan p53-eiwit in normale en neoplastische weefsels, als aanvulling op conventionele histopathologie waarbij niet-immunologische histochemische kleuringen worden gebruikt.**

## Productspecifieke Beperkingen

p53 (DO-7) is geoptimaliseerd door Leica Biosystems voor het gebruik met BOND Polymer Refine Detection en BOND-hulpreegentia. Gebruikers die afwijken van de aanbevolen testprocedures moeten de verantwoordelijkheid accepteren voor de interpretatie van de patiëntresultaten onder deze omstandigheden. De protocoltijden kunnen variëren door de variatie in weefselfixatie en de effectiviteit van antigeenversterking, en moet empirisch worden bepaald. Negatieve reagenscontroles dienen gebruikt te worden voor het optimaliseren van terugwinningscondities en protocoltijden.

## Probleemoplossing

Raadpleeg referentie 3 voor herstelactie.

Neem contact op met uw lokale distributeur of het regionale kantoor van Leica Biosystems om een ongebruikelijke kleuring te melden.

## Overige Informatie

Meer informatie over immunokleuring met BOND-reagentie, onder de titels Uitgangspunten, Vereiste materialen, Voorbereiding monsters, Kwaliteitscontrole, Verificatie van de analyse, Interpretatie van de kleuring, Legenda van symbolen op etiketten, en Algemene beperkingen kunt u vinden in "BOND-reagentia gebruiken" in de gebruikersdocumentatie van BOND.

## Literatuurlijst

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.

10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology*. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology & Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

### **Publicatiedatum**

03 oktober 2018



# BOND™ Primært Antistoff Klart til Bruk

## p53 (DO-7)

### Katalognummer: PA0057

#### Tiltenkt Bruk

*Denne reagensen er til in vitro -diagnostisk bruk.*

p53 (DO-7) monoklonalt antistoff skal brukes til kvalitativ identifikasjon ved lysmikroskopi av p53-protein i formalinfiksert, parafinlagret vev ved hjelp av immunhistokjemisk farging på det automatiske BOND-systemet (herunder Leica BOND-MAX-systemet og Leica BOND-III-systemet).

Den kliniske tolkningen av farging eller manglende farging skal være i tillegg til morfologiske undersøkelser og egnede kontroller, og skal evalueres av en kvalifisert patolog i lys av pasientens kliniske historie og eventuelle andre diagnostiske tester.

#### Oppsummering og Forklaring

Immunhistokjemiske teknikker kan brukes til å vise tilstedeværelse av antigener i vev og celler (se "Bruk av BOND-reagenser" i brukerdokumentasjonen for BOND-systemet). Det primære antistoffet p53 (DO-7) er et produkt som er klart for bruk og spesielt optimalisert for bruk sammen med BOND Polymer Refine Detection. Påvisningen av p53-protein oppnås ved først å la p53 (DO-7) binde seg til preparatet, for deretter å visualisere bindingsprosessen ved hjelp av reagensene som brukes i deteksjonssystemet. Bruken av disse produktene i kombinasjon med det automatiske BOND-systemet reduserer muligheten for menneskelige feil og naturlige variasjoner som følge av individuell reagensfortynning, manuell pipettering og tilsetning av reagenser.

#### Reagenser Som Følger Med

p53 (DO-7) er et anti-humant, monoklonalt antistoff fra mus laget som en vevskultursupernatant, og den leveres i en Tris-bufret saltløsning med bærerprotein, og inneholder 0,35 % ProClin™ 950 som konserveringsmiddel.

Totalt volum = 7 ml.

#### Klon

DO-7.

#### Immunogen

Rekombinant menneskelig villtype p53-protein.

#### Spesifisitet

Menneskelig p53-protein villtype og mutante former under både denaturering og ikke-denaturering forhold.

#### Ig-klasse

IgG2b.

#### Totalproteinkonsentrasjon

Cirka 10 mg/mL.

#### Antistoffkonsentrasjon

Større enn eller tilsvarende 0.06 mg/l i henhold til ELISA.

#### Fortynning og Blanding

p53 (DO-7) primært antistoff er optimalt fortynnet til bruk på BOND-systemet. Rekonstituering, blanding, fortynning eller titrering av denne reagensen er ikke nødvendig.

#### Materiell Som Krevs, Men Som Ikke Medfølger

Les "Bruk av BOND-reagenser" i brukerdokumentasjonen for BOND-systemet hvis du ønsker en komplett liste over materiell som er nødvendig for preparatbehandling og immunhistokjemisk farging på BOND-systemet.

#### Oppbevaring og Stabilitet

Oppbevares ved 2–8 °C. Må ikke brukes etter utløpsdatoen angitt på produktetiketten.

Tegn på kontaminering og/eller ustabilitet for Product name er: blakket løsning, endret lukt og bunnsfall.

Returneres til 2–8 °C umiddelbart etter bruk.

Andre oppbevaringsbetingelser må valideres av brukeren<sup>1</sup>.

#### Forholdsregler

- Dette produktet skal brukes til in vitro-diagnostikk.
- Konsentrasjonen av ProClin™ 950 er 0,35 %. Den inneholder virkestoffet 2-metyl-4-isotiasolin-3-on, og kan skape irritasjoner på hud, øyne, slimhinner og øvre luftveier. Bruk engangshansker ved håndtering av reagenser.
- Dataark om materialsikkerhet (MSDS) er tilgjengelig hos den lokale forhandleren eller regionkontoret til Leica Biosystems. Det kan også lastes ned fra nettsidene til Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- Preparater (før og etter fiksering) og alt materiale som eksponeres for dem, skal behandles som potensielt smittefarlig og kasseres i samsvar med gjeldende forholdsregler<sup>2</sup>. Hold aldri pipetter med reagens i munnen, og unngå at hud og slimhinner kommer i kontakt med reagenser og prøver. Hvis reagenser eller prøver kommer i kontakt med følsomme områder, skal de skylles med rikelig vann. Kontakt lege.

- Følg nasjonale og lokale forskrifter for kassering av komponenter som kan være giftige.
- Reduser mikrobiell kontaminering av reagensene til et minimum, ellers kan det forekomme økt uspesifisert farging.
- Gjennfinning, inkubasjonstider eller temperaturer som er annerledes enn det som er angitt, kan gi unøyaktige resultater. Slike endringer må valideres av brukeren.

## Bruksanvisning

p53 (DO-7) primært antistoff ble utviklet for bruk sammen med det automatiske BOND-systemet i kombinasjon med BOND Polymer Refine Detection. Anbefalt fargeprotokoll for p53 (DO-7) primært antistoff er IHC Protocol F. Hete indusert epitop hentling anbefales å bruke BOND Epitope Retrieval Solution to i 20 minutter.

## Forventede resultater

### Normalt vev

På grunn av lave nivåer av p53-protein i normalt vev, er farging med p53 (DO-7) svak i kjernen til kryptceller i slimhinnen og lymfoide aggregater i tarmen, basale epitelceller i livmorhals og tonsille, tonsillers kimsentre, pneumocytter i lungene, keratinocytter i overhuden, sædproduserende tubuli i testiklene og i kjertlene i hypofysen og binyrene. (Totalt antall normale tilfeller farget = 84)

### Tumorer

Klone DO-7 farget 56/86 tumorer som ble vurdert, inkludert brysttumorer (28/41, inkludert 26/38 ductkarcinomer, 1/1 fylldiodiumtumor, 1/1 cytosarkom fylldiodium og 0/1 atypisk mmedullært karcinom), ovarietumorer (4/5, inkludert 2/2 serøse karcinomer, 1/1 mucinøst karcinom, 1/1 klarcellekarcinom, og 0/1 kimcelletumor), lungtumorer (3/4, inkludert 2/3 ikke-småcellede karcinomer og 1/1 epitelcellekarcinom), papillærkarcinom i thymus (2/4), levertumorer (2/4), plateepitelcellekarcinomer i tunge (2/2), metastatiske tumorer av ukjent opprinnelse (2/2) adenokarcinomer fra kolon (3/3), adenokarcinomer fra rektum (2/2), hjernetumorer (1/2), plateepitelcellekarcinomer fra spiserør (1/2), adenokarcinom fra mage (1/2), bløtvevtumorer (1/2), nyrecellekarcinomer (1/2), plateepitelcellekarcinomer fra livmorhals (1/2), hudtumorer (1/2), karcinom fra endometrium i livmor (1/1), testikkelseminomer (0/2), plateepitelcellekarcinomer fra strupehode (0/1) og atypisk karsinoidtumor fra thymus (0/1). (Totalt antall vurderte tumortilfeller = 86).

**p53 (DO-7) anbefales for deteksjon av humant p53-protein i normalt og neoplastisk vev, i tillegg til konvensjonell histopatologi med bruk av ikke-immunologiske histokjemiske farger.**

## Produktspesifikke Begrensninger

p53 (DO-7) er optimalisert av Leica Biosystems til bruk sammen med BOND Polymer Refine Detection og BOND tilleggsreagenser. Brukere som avviker fra de anbefalte testprosedyrene, må selv ta ansvar for tolkningen av pasientresultater i slike situasjoner. Protokollidene kan variere grunnet variasjon i vevsfixering og effektiviteten til antigenforsterkning, og må dermed bestemmes empirisk. Negative reagenskontroller bør brukes ved optimalisering av gjenvinningsforhold og protokolltider.

## Feilsøking

Se referanse nr. 3 for opprettingstiltak.

Ta kontakt med den lokale forhandleren eller regionkontoret til Leica Biosystems for å rapportere om unormal farging.

## Ytterligere opplysninger

Du finner mer informasjon om immunfarging med BOND-reagenser i "Bruk av BOND-reagenser" i brukerdokumentasjonen for BOND-systemet under overskriftene Testprinsipper, Materieell som kreves, Preparering av prøver, Kvalitetskontroll, Analysekontroll, Tolkning av farging, Oversikt over symboler og Generelle begrensninger.

## Bibliografi

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. *Cytopathology*. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. *British Journal of Cancer*. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. *Journal of Pathology*. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. *British Journal of Cancer*. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in phaeochromocytomas and paragangliomas. *Journal of Clinical Pathology*. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology*. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology & Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.

15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

### **Utgivelsesdato**

03 oktober 2018

# BOND™ Kullanıma Hazır Primer Antikor

## p53 (DO-7)

### Katalog No: PA0057

#### Kullanım Amacı

*Bu reagent, in vitro diagnostik kullanımı içindir.*

p53 (DO-7) monoklonal antikor, otomatik BOND sistemini (Leica BOND-MAX sistemini ve Leica BOND-III sistemini içerir) kullanan immünohistokimyasal boyama ile formalinle fikse edilmiş, parafine gömülmüş dokuda p53 proteini ışık mikroskopisi tarafından kalitatif tanımlama için kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

Herhangi bir boyamanın mevcut olması veya olmaması ile ilgili klinik yorumlama, morfolojik çalışmalarla ve uygun kontrollerle tamamlanmalıdır ve hastanın klinik geçmişi ve diğer diagnostik testler kapsamında kalifiye bir patolojist tarafından değerlendirilmelidir.

#### Özet ve Açıklama

İmmünohistokimyasal teknikler, doku ve hücrelerde antijen olduğunu göstermek amacıyla kullanılabilir (BOND kullanıcı dokümantasyonunuzdaki "BOND Reagent'larının Kullanılması" bölümüne bakınız). Product name primer antikor, özellikle BOND Polymer Refine Detection ile kullanılmak üzere optimize edilmiş kullanıma hazır bir üründür. p53 proteini gösterimi, öncelikle p53 (DO-7) ürününün seksiyona bağlanmasına izin verilmesi ve sonra bu bağlamanın, tespit etme sistemindeki reagent'lar kullanılarak görselleştirilmesi ile gerçekleştirilir. Bu ürünlerin otomatik BOND sistemi ile birlikte kullanılması, insan hatasını ve münferit reagent dilüsyonu, manuel pipetleme ve reagent uygulaması sonucunda ortaya çıkan inherent değişkenliği azaltır.

#### Sağlanan Reagent'lar

p53 (DO-7), bir supernatant doku kültürü olarak oluşturulan bir mouse anti-human monoklonal antikordur ve prezervatif olarak % 0,35 ProClin™ 950 içeren taşıyıcı proteine sahip Tris buffer salin içerisinde verilir.

Toplam hacim = 7 mL.

#### Clone

DO-7.

#### İmmünojen

Rekombinant insan vahşi tip p53 proteini.

#### Spesifite

İnsan p53 proteini yabancı tip ve denatüre ve koşulları olmayan denatüre hem altında mutanti formları.

#### Ig Sınıfı

IgG2b.

#### Toplam Protein Konsantrasyonu

Yaklaşık 10 mg/mL.

#### Antikor Konsantrasyonu

ELISA tarafından belirlendiği gibi 0.06 mg/L'ye eşit veya bu değerden yüksektir.

#### Dilüsyon ve Karışım

p53 (DO-7) primer antikor, BOND sisteminde kullanılmak için optimal şekilde dilüe edilmiştir. Bu reagent için sulandırma, karıştırma, dilüsyon veya titraj işlemlerinin yapılması gerekli değildir.

#### Sağlanmayan Ancak Gerekli Olan Materyaller

BOND sistemini kullanan immünohistokimyasal boyama ve numune tretmanı için gerekli materyallerin komple listesi için BOND kullanıcı dokümantasyonunuzdaki "BOND Reagent'larının Kullanılması" bölümüne bakınız.

#### Saklama ve Dayanıklılık

2–8 °C'de saklayın. Konteyner etiketinin üzerinde belirtilen son kullanım tarihinden sonra kullanmayın.

p53 (DO-7) kontaminasyonunu ve/veya instabilitesini belirten işaretler: solüsyonun türbiditesi, koku gelişimi ve presipitatın mevcut olması.

Kullanımdan hemen sonra 2–8 °C'ye dönün.

Yukarıda belirtilenlerin dışındaki saklama koşullarının, kullanıcı<sup>1</sup> tarafından kontrol edilmesi gerekir.

#### Önlemler

- Bu ürün, in vitro diagnostik kullanımı içindir.
- ProClin™ 950 konsantrasyonu % 0,35'dir. 2-metil-4-izotiyazolin-3-tek etken maddesini içerir ve ciltte, gözlerde, muköz membranlarda ve üst solunum yolunda iritasyona neden olabilir. Reagent'larla işlem yaparken tek kullanımlık eldiven takın.
- Bir Material Safety Data Sheet (Malzeme Güvenlik Veri Sayfası) kopyası elde etmek için yerel distribütörünüze veya bölgesel Leica Biosystems ofisine başvurun veya alternatif olarak [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) Leica Biosystems internet sitesini ziyaret edin

- Fikse etme işleminden önce ve sonra numuneler ve bunlara maruz kalan tüm materyaller, enfeksiyon yayabilecek gibi ele alınmalı ve doğru önlemler alınarak atığa çıkarılmalıdır.<sup>2</sup> Reagent'lar asla ağızla pipetlenmemeli ve cildin ve muköz membranların reagent ve numunelerle temasından kaçınılmalıdır. Reagent veya numunelerin hassas alanlarla temas etmesi durumunda bu alanları bol su ile yıkayın. Doktora başvurun.
- Potansiyel tüm toksik komponentlerin imhası için federal, ulusal veya lokal düzenlemelere başvurun.
- Reagent'ların mikrobiyal kontaminasyonunu minimize edin, aksi durumda nonspesifik boyamada bir artış ortaya çıkabilir.
- Belirtilenler dışında retrieval, inkübasyon süreleri veya sıcaklıkları, hatalı sonuçlara neden olabilir. Tüm değişiklikler, kullanıcı tarafından doğrulanmalıdır.

## Kullanım Talimatları

p53 (DO-7) primer antikor, BOND Polymer Refine Detection ile birlikte otomatik BOND sisteminde kullanılmak için geliştirilmiştir. p53 (DO-7) primer antikor için önerilen boyama protokolü IHC Protocol F'dir. Isı kaynaklı epitop alımı 20 dakika BOND Epitope Retrieval Solution 2 kullanılması önerilir.

## Öngörülen Sonuçlar

### Normal Dokular

Normal dokulardaki düşük p53 proteini düzeyleri nedeniyle; p53 (DO-7) nedeniyle oluşan boyama, mukozal kript hücrelerinin çekirdeklerinde ve barsaklardaki lenfoid agregatlarında, serviks ve tonsil bazal epitel hücrelerinde, tünsil germinal merkezlerinde, akciğerdeki pnömositlerde, epidermi keratinositlerinde, testis seminiferöz tübüllerinde ve balgam ve böbreküstü bezlerinde zayıftır. (Boyanan toplam normal vaka sayısı = 84).

### Tümörleri Dokular

DO-7 klonu, göğüs tümörleri (26/38 kanalsı karsinomlar, 1/1 filloides tümörü, 1/1 karsinom filloitleri ve 0/1 tipik olmayan medüler karsinom dahil 28/41), overyen tümörleri (2/2 seröz karsinomlar, 1/1 müsinöz karsinom, 1/1 şeffaf hücre karsinomu ve 0/1 üreme hücresi tümörü dahil 4/5), akciğer tümörleri (2/3 küçük olmayan hücre karsinomları ve 1/1 sküamöz hücre karsinomları dahil 3/4), tiroit papiller karsinomlar (2/4), karaciğer tümörleri (2/4), dil sküamöz hücre karsinomları (2/2), bilinmeyen kaynaklı metastatik tümörler (2/2), kolon adenokarsinomları (3/3), rektum adenokarsinomları (2/2), beyin tümörleri (1/2), özofagus sküamöz hücre karsinomları (1/2), mide adenokarsinomları (1/2), yumuşak doku tümörleri (1/2), renal hücre karsinomları (1/2), serviks sküamöz hücre karsinomları (1/2), cilt tümörleri (1/2), döllyatağı endometrioid karsinomu (1/1), testis seminomları (0/2), gırtlak sküamöz hücre karsinomu (0/1) ve timüs tipik olmayan karsinoid tümörü (0/1) dahil olmak üzere değerlendirilen tümörlerde 56/86 oranında boyama yapmıştır. (Değerlendirilen toplam tümör vakası sayısı = 86).

**p53 (DO-7), immünoojik olmayan histokimyasal boyamalar kullanılarak yapılan geleneksel histopatolojiye ek olarak normal ve neoplastik dokularda insan p53 proteininin saptanması için önerilir.**

## Ürüne Özel Sınırlamalar

p53 (DO-7), Leica Biosystems'da BOND Polymer Refine Detection ve BOND yardımcı reagent'ları ile birlikte kullanılmak üzere optimize edilmiştir. Önerilen test prosedürlerinin dışına çıkan kullanıcılar, bu şartlar altında hasta sonuçlarının yorumlanması için sorumluluğu kabul etmelidirler. Protokol süreleri, doku fiksasyonu ve antijen değerlendirme etkinliği nedeniyle değişiklik gösterebilir; bunlar ampirik olarak belirlenmelidir. Negatif reagent kontrolleri, retrieval koşulları ve protokol süreleri optimize edilirken kullanılmalıdır.

## Arıza Giderme

Düzeltilici işlem için 3 no'lu referansa başvurun.

Olağandışı boyamayı rapor etmek için yerel distribütörünüze veya bölgesel Leica Biosystems ofisine başvurun.

## Daha Fazla Bilgi

Prosedür Prensipleri, Gerekli Materyaller, Numune Hazırlığı, Kalite Kontrol, Test Doğrulaması, Boyamanın Yorumlanması, Etiketlerdeki Tuşlar ve Semboller ve Genel Sınırlamalar başlıkları altındaki BOND reagent'lar ile immünohistokimyasal boyama ile ilgili daha fazla bilgi, BOND kullanıcı dokümantasyonunuzun "BOND Reagent'larının Kullanılması" altında bulunabilir.

## Kaynakça

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. Archivos Espanoles de Urologia. 1999; 52(8):840–848.

12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology & Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

## **Yayım tarihi**

03 Ekim 2018

# Готово за употреба първично антитяло BOND™ p53 (DO-7)

Каталожен №: PA0057

## Предназначение

*Този реактив е за употреба при in vitro диагностика.*

Моноклоналното антитяло p53 (DO-7) е предназначено за качествена идентификация чрез оптична микроскопия на човешки протеин p53 във фиксирана с формалин, вградена в парафин тъкан чрез имунохистохимично оцветяване, използвайки автоматизираната система BOND (включва системите Leica BOND-MAX и Leica BOND-III).

Клиничната интерпретация на всяко оцветяване или неговата липса следва да бъде допълнена от морфологични проучвания и съответните контроли и да се оценява в контекста на клиничната история на пациента и други диагностични изследвания от квалифициран патолог.

## Кратко описание и обяснение

Могат да бъдат използвани имунохистохимични техники за демонстриране на наличието на антигени в тъканта и клетките (вж. „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND). Първичното антитяло p53 (DO-7) е готов за употреба продукт, който е специално оптимизиран за използване с BOND Polymer Refine Detection. Показването на човешки протеин p53 се постига, като първо се позволява свързването на p53 (DO-7) с участъка, след което това свързване се визуализира, като се използват реактивите, предоставени в системата за откриване. Употребата на тези продукти заедно с автоматизираната система BOND намалява възможността от човешка грешка и присъщата изменчивост в резултат на отделно разреждане на реактиви, ръчно пипетиране и прилагане на реактиви.

## Предоставени реактиви

p53 (DO-7) е мише античовешко моноклонално антитяло, получено като пречистен супернатант от тъканна култура и доставено в трометамин-буфериран физиологичен разтвор с протеинов носител, съдържащ 0,35% ProClin™ 950 като консервант.

Общ обем = 7 mL.

## Клонинг

DO-7.

## Имуноген

Рекомбинантен човешки протеин p53 от див тип.

## Специфичност

Човешки протеин p53 от див тип и мутантни форми при и без денатурация.

## Подклас

IgG2b.

## Обща концентрация на протеин

Приблизително 10 mg/mL.

## Концентрация на антитела

По-висока или равна на 0,06 mg/L, както е определено от ELISA.

## Разреждане и смесване

Първичното тяло p53 (DO-7) е оптимално разрежено за употреба със системата BOND. Не се изисква възстановяване, смесване, разреждане или титриране на този реактив.

## Необходими, но непредоставени материали

Вижте „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND за пълен списък от материалите, необходими за третиране на спесимени и имунохистохимично оцветяване, използвайки системата BOND.

## Съхранение и стабилност

Да се съхранява при температура 2 – 8 °C. Не използвайте след срока на годност, указан на етикета на контейнера.

Признаците за замърсяване и/или нестабилност на p53 (DO-7) са: мътност на разтвора, проява на мирис и наличие на утайка.

Да се върне на температура 2 – 8 °C веднага след употреба.

Другите условия на съхранение, освен посочените по-горе, трябва да бъдат проверени от потребителя<sup>1</sup>.

## Предпазни мерки

- Този продукт е предназначен за in vitro диагностика.
- Концентрацията на ProClin™ 950 е 0,35%. Съдържа активната съставка 2-метил-4-изотиазолин-3-он и може да причини дразнене на кожата, очите, лигавиците и горните дихателни пътища. При работа с реактивите да се носят ръкавици за еднократна употреба.
- За да получите копие на информационния лист за безопасност на материалите, свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионален офис на Leica Biosystems или посетете уебсайта на Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

- Спесимените преди и след фиксация, както и всички материали, изложени на тяхното влияние, трябва да бъдат третирани като способни да предадат инфекция и да бъдат изхвърлени, прилагайки съответните предпазни мерки<sup>2</sup>. Никого не пипетирайте реактиви с уста и избягвайте контакт на кожата и лигавиците с реактиви или спесимени. В случай че реактиви или спесимени влязат в контакт с чувствителни зони, да се измият с обилно количество вода. Потърсете медицинска помощ.
- Консултирайте се с федералните, държавните или местните регламенти относно изхвърлянето на потенциално токсични компоненти.
- Свеждайте до минимум микробната контаминация на реактивите, иначе може да се появи увеличаване на неспецифичното оцветяване.
- Извличането, инкубационните времена или температури, различни от посочените, могат да доведат до погрешни резултати. Всякакви подобни промени трябва да бъдат валидирани от потребителя.

## Инструкции за употреба

Първичното тяло p53 (DO-7) е разработено за употреба с автоматизираната система BOND в комбинация с BOND Polymer Refine Detection. Препоръчителният протокол за оцветяване за първичното анти тяло p53 (DO-7) е IHC Protocol F. Препоръчва се термично индуцирано извличане на епитола на BOND Epitope Retrieval Solution 2 в продължение на 20 минути.

## Очаквани резултати

### Нормални тъкани

Поради ниските нива на протеина p53 в нормалните тъкани оцветяването с p53 (DO-7) е слабо в ядрата на мукозните клетки в криптите и лимфните натрупвания в червата, както и базалните епителни клетки на маточната шийка и сливиците, зародишните центрове в сливиците, пневмоцитите в белите дробове, кератоцитите в епидермиса, семенните каналчета на тестисите, както и хипофизата и надбъбречните жлези. (Общ брой на нормалните случаи на оцветяване = 84)

### Туморни тъкани

Клонинг DO-7 оцветява 56/86 оценени тумора, включително тумори на гърдата (28/41, включ. 26/38 дуктални карцинома, 1/1 филоиден тумор, 1/1 филоиден цитосарком и 0/1 атипичен медуларен карцином), тумори на яйчниците (4/5, включ. 2/2 серозни карцинома, 1/1 муцинозен карцином, 1/1 карцином на светлите клетки и 0/1 тумор на зародишните клетки), белодробни тумори (3/4, включ. 2/3 недребночелъчни карцинома и 1/1 сквамозночелъчен карцином), папиларни карциноми на щитовидната жлеза (2/4), чернодробни тумори (2/4), сквамозночелъчни карциноми на езика (2/2), метастатични тумори с неясен произход (2/2), аденокарциноми на дебелото черво (3/3), аденокарциноми на ректума (2/2), мозъчни тумори (1/2), сквамозночелъчни карцинома на хранопровода (1/2), аденокарциноми на стомаха (1/2), тумори на меките тъкани (1/2), бъречночелъчни карциноми (1/2), сквамозночелъчни карциноми на маточната шийка (1/2), кожни тумори (1/2), маточни ендометридни карциноми (1/1), семиноми на тестисите (0/2), сквамозночелъчни карциноми на ларинкса (0/1) и атипичен карциноиден тумор на тимуса (0/1). (Общ брой на оценените случаи на тумор = 86).

**Продуктът p53 (DO-7) се препоръчва за откриване на човешки протеин p53 в нормални и неопластични тъкани като допълнение към конвенционалната хистопатология с използване на неимунологични хистохимични оцветявания.**

## Специфични ограничения на продукта

p53 (DO-7) е оптимизиран от Leica Biosystems за употреба с BOND Polymer Refine Detection и спомагателните реактиви BOND. Потребителите, които се отклоняват от препоръчаните процедури за тестване, трябва да поемат отговорност за интерпретацията на резултатите на пациентите при тези обстоятелства. Времетраенето на протоколите може да варира поради вариацията във фиксацията на тъканта и ефективността на усилването на антигена и трябва да се определи емпирично. Трябва да се използват негативни контроли на реактивите при оптимизиране на условията на извличане и времетраенето на протоколите.

## Отстраняване на неизправности

Разгледайте референция 3 за коригиращи действия.

Свържете се с Вашия местен дистрибутор или регионалния офис на Leica Biosystems, за да съобщите за необичайно оцветяване.

## Допълнителна информация

Допълнителна информация за имунооцветяване с реактиви BOND можете да намерите в „Употреба на реактиви BOND“ във Вашата документация за потребителя на BOND под заглавията „Принципи на процедурата“, „Необходими материали“, „Приготвяне на спесимен“, „Контрол на качеството“, „Потвърждаване на анализа“, „Интерпретация на оцветяването“, „Легенда на символите на етикетите“ и „Общи ограничения“.

## Библиография

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.



8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. *Journal of Clinical Pathology*. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology*. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

#### **Дата на издаване**

03 Октомври 2018

# BOND™ azonnal használható elsődleges antitest

## p53 (DO-7)

### Katalógusszám: PA0057

#### Alkalmazási terület

*Ez a reagens in vitro diagnosztikai használatra szolgál.*

A p53 (DO-7) monoklonális antitest a humán p53 fehérje fénymikroszkóppal történő kvalitatív azonosítására szolgál formailag fixált, paraffinba ágyazott szövetben, immunhisztokémiai festés útján, automata BOND rendszer (így a Leica BOND-MAX rendszer vagy a Leica BOND-III rendszer) használatával.

Minden festődés meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését morfológiai vizsgálatokkal és megfelelő kontrollokkal kell kiegészíteni, valamint az értékelést a beteg klinikai kórtörténete és egyéb diagnosztikai vizsgálatok figyelembevételével, képzett patológusnak kell elvégeznie.

#### Összefoglalás és magyarázat

Az immunhisztokémiai módszerek antigének jelenlétének kimutatására szolgálnak szövetekben és sejtekben (lásd a „BOND reagentek használata” című részt a BOND felhasználói dokumentációban). A p53 (DO-7) elsődleges antitest használatra kész termék, amely kifejezetten a BOND Polymer Refine Detection kittel való használatra lett optimalizálva. A humán p53 fehérje kimutatása úgy történik, hogy előbb lehetővé kell tenni a p53 (DO-7) kötődését a metszethez, majd ez a kötődés megjeleníthető a detektáló rendszerben található reagensekkel. Ha ezeket a termékeket az automata BOND rendszerrel együtt használják, csökken az emberi hibák lehetősége, és mérsékelhető az egyes reagentek hígításából, a manuális pipettázásból és a reagentek alkalmazásából származó eredendő eltérések.

#### Biztosított reagentek

A p53 (DO-7) egér eredetű, antihumán monoklonális antitest, amelyet szövettenyésztet felülűszóként állítanak elő. Kiszárlása: tris-pufferelt sóoldatban, hordozófehérjével és tartósítószerként 0,35% ProClin™ 950-nel.

Teljes mennyiség = 7 ml.

#### Klón

DO-7.

#### Immunogén

Rekombináns humán vad típusú p53 fehérje.

#### Specifitás

A vad típusú és mutáns humán p53 fehérje denaturáló és nem denaturáló körülmények között.

#### Alosztály

IgG2b.

#### Összfehérje-koncentráció

Kb. 10 mg/ml.

#### Antitest-koncentráció

Legalább 0,06 mg/l ELISA módszerrel meghatározva.

#### Hígítás és elegyítés

A p53 (DO-7) elsődleges antitest hígítása optimális a BOND rendszerrel való használathoz. Nem szükséges a reagens feloldása, elegyítése, hígítása vagy titrálása.

#### Szükséges, de nem biztosított anyagok

A minta kezeléséhez és a BOND rendszerrel végzett immunhisztokémiai festéshez szükséges anyagok teljes listáját lásd a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagentek használata” című részében.

#### Tárolás és stabilitás

2–8 °C-on tárolandó. Ne használja fel a tartály címkéjén feltüntetett lejárati dátum után.

A p53 (DO-7) szennyezettségére és/vagy instabilitására utaló jelek a következők: az oldat zavarossága, szag kialakulása és csapadék jelenléte.

Felhasználás után azonnal tegye vissza 2–8 °C közötti hőmérsékletre.

A fentiekben előírtaktól eltérő tárolási feltételeket a felhasználónak ellenőriznie kell<sup>1</sup>.

#### Övintézkedések

- Ez a termék in vitro diagnosztikai használatra szolgál.
- A ProClin™ 950 koncentrációja 0,35%. A termék 2-metil-4-izotiazolin-3-on hatóanyagot tartalmaz, amely a bőr, a szem, a nyálkahártyák és a felső légutak irritációját okozhatja. A reagentek kezeléséhez viseljen egyszer használatos kesztyűt.
- Az anyagbiztonsági adatlap igényléséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához, vagy keresse fel a Leica Biosystems weboldalát a [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com) címen.

- A mintákat fixálás előtt és után, valamint a velük érintkező összes anyagot fertőzések terjesztésére képes anyagként kell kezelni, és megfelelő körültekintéssel kell ártalmatlanítani<sup>2</sup>. Soha ne pipettázza szájjal a reagenseket, továbbá kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a reagensekkel és a mintákkal. Ha a reagensek vagy minták érzékeny területtel érintkeznek, bő vízzel mossa le az érintett területet. Forduljon orvoshoz.
- Minden potenciálisan toxikus összetevő ártalmatlanításával kapcsolatban kövesse a szövetségi, állami és helyi előírásokat.
- Minimálisan kell csökkenteni a reagensek mikrobiális szennyeződését, különben megnövekedhet a nem specifikus festődés.
- A megadottaktól eltérő feltérési körülmények, inkubációs idők és hőmérsékletek hibás eredményekhez vezethetnek. A felhasználónak minden ilyen jellegű változtatást validálnia kell.

## Használati útmutató

A p53 (DO-7) elsődleges antitest automata BOND rendszerrel és a BOND Polymer Refine Detection kittel való együttes használatra lett kifejlesztve. A p53 (DO-7) elsődleges antitesthez javasolt festési protokoll az „F” IHC-protokoll. A hőindukált epitópfeltáráshoz BOND Epitope Retrieval Solution 2 oldat 20 percig tartó alkalmazása javasolt.

## Várható eredmények

### Normál szövetek

A normál szövetek alacsony p53 fehérjetartalma miatt a p53 (DO-7) festődés gyenge a sejtmagban a nyálkahártya kriptasejtjeiben és a bél limfoid aggregátumaiban, a méhnyak és a tonsilla bazális hámsajtjeiben, a tonsilla csiraközpontjaiban, a tüdő pneumocitáiban, az epidermisz keratinocitáiban, a here csatornáiban, valamint a hipofízisben és a mellékvesében. (Megfestett normál esetek összesített száma = 84)

### Tumorszövetek

A DO-7 klón a vizsgált 86 daganat közül 56-ot festett meg, részletezve: emlődaganat (28/41, ezen belül 26/38 ductális karcinóma, 1/1 phylloid tumor, 1/1 phylloid citoszarkóma és 0/1 atipusos medulláris karcinóma), petefészek-daganat (4/5, ezen belül 2/2 szerózus karcinóma, 1/1 mucinózus karcinóma, 1/1 világossejtes karcinóma, valamint 0/1 csírasejtes tumor), tüdődaganat (3/4, ezen belül 2/3 nem kisjeles karcinóma és 1/1 laphámsejtes karcinóma), papilláris pajzsmirigy-karcinóma (2/4), májdaganat (2/4), laphámsejtes nyelvkarcinóma (2/2), ismeretlen eredetű metasztitikus daganat (2/2), vastagbél adenokarcinóma (3/3), végbél adenokarcinóma (2/2), agydaganat (1/2), laphámsejtes nyelőcső-karcinóma (1/2), gyomor adenokarcinóma (1/2), lágyrészdaganat (1/2), vesesejtes karcinóma (1/2), laphámsejtes méhnyakkarcinóma (1/2), bőrdaganat (1/2), endometriumkarcinóma (1/1), here szemínóma (0/2), laphámsejtes gégekarcinóma (0/1) és a csecsemőmirigy atipusos karcinóm tumor (0/1). (Vizsgált tumorseitek összesített száma = 86.)

**Az p53 (DO-7) a humán p53 fehérje detektálására ajánlott egészséges és tumoros szövetekben, a nem immunológiai hisztokémiai festést használó hagyományos körszöveteti eljárások kiegészítéseként.**

## Termékspecifikus korlátozások

A p53 (DO-7) termékét a Leica Biosystems a BOND Polymer Refine Detection kittel és a BOND segédreagensekkel való használatra optimalizálta. A tesztelési eljárásoktól való eltérés esetén a felhasználó felelőssége a betegeredmények értelmezése az adott körülmények között. A protokoll végrehajtásához szükséges idő a szövet fixálásának és az antigén-erősítés hatékonyságának eltérései miatt változó lehet, ezért tapasztalati alapon történő meghatározást igényel. A feltérési körülmények és a protokollidők optimalizálásakor negatív reagenskontrollokat kell használni.

## Hibaelhárítás

A javító intézkedéseket lásd a 3. hivatkozásban.

Szokatlan festődés bejelentéséhez forduljon a Leica Biosystems helyi forgalmazójához vagy regionális irodájához.

## További információk

A BOND reagensekkel végzett immunfestésre vonatkozó további információkat a BOND felhasználói dokumentáció „BOND reagensek használat” című részében talál a következő szakaszokban: Az eljárás elve, Szükséges anyagok, A minták előkészítése, Minőség-ellenőrzés, A teszt ellenőrzése, A festődés értelmezése, A címkéken szereplő szimbólumok magyarázata és Általános korlátozások.

## Szakirodalom

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. Archivos Espanoles de Urologia. 1999; 52(8):840–848.

12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

## **Kiadás dátuma**

03 október 2018

# Anticorpul primar gata de utilizare BOND™ p53 (DO-7)

Nr. catalog: PA0057

## Utilizare prevăzută

*Acest reactiv este destinat utilizării pentru diagnosticare in vitro.*

Anticorpul monoclonal p53 (DO-7) este destinat utilizării pentru identificarea calitativă, prin intermediul microscopiei optice, a proteinei p53 umane în țesut fixat în formalină, încorporat în parafină, prin colorare imunohistochimică utilizând sistemul automat BOND (care include sistemul Leica BOND-MAX și sistemul Leica BOND-III).

Interpretarea clinică a oricărei colorații sau a absenței acesteia trebuie verificată prin studii morfologice, folosind proceduri de control adecvate, și trebuie evaluată în contextul istoricului clinic al pacientului, precum și al altor teste de diagnosticare efectuate de către un patolog calificat.

## Rezumat și explicație

Tehnicele imunohistochimice pot fi utilizate pentru a demonstra prezența antigenilor în țesuturi și celule (a se vedea „Utilizarea reactivilor BOND” în documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND. Anticorpul primar p53 (DO-7) este un produs gata de utilizare care a fost optimizat în mod specific pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection. Demonstrarea prezenței proteinei p53 umane este realizată mai întâi prin permiterea legării p53 (DO-7) la secțiune și apoi prin vizualizarea acestei legări utilizând reactivii furnizați în sistemul de detecție. Utilizarea acestor produse, în combinație cu sistemul automat BOND, reduce posibilitatea producerii de erori umane și variabilitatea inerentă care rezultă din diluția individuală a reactivului, pipetarea manuală și aplicarea reactivului.

## Reactivi furnizați

p53 (DO-7) este un anticorp monoclonal anti-uman de șoarece produs ca supernatant de cultură tisulară furnizat în soluție salină tamponată cu trometamină cu proteină purtătoare, care conține 0,35% ProClin™ 950 drept conservant.

Volum total = 7 ml.

## Clonă

DO-7.

## Imunogen

Proteină recombinantă umană p53 tip sălbatic.

## Specificitate

Proteină p53 umană tip sălbatic și forme mutante în condiții denaturante și nedenaturante.

## Sub-clasă

IgG2b.

## Concentrație proteină totală

Aproximativ 10 mg/mL.

## Concentrație anticorpi

Mai mare sau egală cu 0,06 mg/L, așa cum este determinată prin ELISA.

## Diluare și amestecare

Anticorpul primar p53 (DO-7) este diluat optim pentru utilizare la sistemul BOND. Reconstituirea, amestecarea, diluarea sau titrarea acestui reactiv nu sunt necesare.

## Materiale necesare, dar care nu sunt furnizate

Consultați „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND pentru o listă completă a materialelor necesare pentru tratarea speciemenelor și colorarea imunohistochimică utilizând sistemul BOND.

## Depozitare și stabilitate

A se depozita la 2–8 °C. A nu se utiliza după data expirării indicată pe eticheta recipientului.

Semnele care indică contaminarea și/sau instabilitatea p53 (DO-7) sunt: turbiditatea soluției, formarea de mirosuri și prezența precipitatului.

A se returna la 2–8 °C imediat după utilizare.

Alte condiții de depozitare decât cele specificate mai sus trebuie verificate de către utilizator<sup>1</sup>.

## Precauții

- Acest produs este destinat utilizării pentru diagnosticare in vitro.
- Concentrația de ProClin™ 950 este 0,35%. Acesta conține ingredientul activ 2-metil-4-izotiazolin-3-ona și poate cauza iritarea pielii, ochilor, membranelor mucoase și tractului respirator superior. Purtați mănuși de unică folosință atunci când manipulați reactivii.
- Pentru a obține o copie a fișei tehnice de securitate a materialului, luați legătura cu distribuitorul dvs. local sau cu biroul regional al Leica Biosystems sau, ca alternativă, vizitați site-ul web al Leica Biosystems, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)

- Specimenele, înainte și după fixare, precum și toate materialele expuse la acestea, trebuie manipulate ca și când ar avea potențialul de a transmite infecții și trebuie eliminate luând măsurile de precauție adecvate<sup>2</sup>. Nu pipetați niciodată reactivii cu gura și evitați contactul reactivilor și speciemenelor cu pielea și membranele mucoase. Dacă reactivii sau probele vin în contact cu suprafețele sensibile, spălați cu apă din abundență. Solicitați asistență medicală.
- Consultați regulamentele naționale, județene sau locale pentru informații privind eliminarea la deșuri a oricăror componente cu potențial toxic.
- Reduceți la minimum contaminarea microbiană a reactivilor, în caz contrar poate apărea o creștere a colorației nespecifice.
- Timpii sau temperaturile de recuperare, incubație care diferă de valorile specificate pot genera rezultate eronate. Orice astfel de modificare trebuie validată de către utilizator.

## Instrucțiuni de utilizare

Anticorpul primar p53 (DO-7) a fost dezvoltat pentru utilizare la sistemul automat BOND în combinație cu BOND Polymer Refine Detection. Protocolul de colorare recomandat pentru anticorpul primar p53 (DO-7) este IHC Protocol F. Se recomandă recuperarea indusă de căldură a epitopilor utilizând BOND Epitope Retrieval Solution 2 timp de 20 de minute.

## Rezultate așteptate

### Țesuturi normale

Din cauza nivelelor scăzute de proteină p53 în țesuturile normale, colorarea cu p53 (DO-7) este slabă în nucleul celulelor mucozale ale criptelor și agregatele limfoide din intestin, celulele epiteliale bazale din colul uterin și amigdale, centrele germinale ale amigdalelor, pneumocitele din plămâni, keratinocitele din epidermă, tubulele seminifere din testicule și în glandele pituitare și suprarenale. (Numărul total al cazurilor normale la care s-a realizat colorare = 84).

### Țesuturi tumorale

Clona DO-7 a colorat 56/86 din tumorile evaluate, incluzând tumori mamare (28/41, incluzând 26/38 carcinoame ductale, 1/1 tumoră phyllodes, 1/1 citosarcom phyllodes și 0/1 carcinom medular atipic), tumori ovariene (4/5, incluzând 2/2 carcinoame seroase, 1/1 carcinom mucinos, 1/1 carcinom cu celule clare și 0/1 tumoră cu celule germinale), tumori pulmonare (3/4, incluzând 2/3 carcinoame non-microcelulare și 1/1 carcinom cu celule scuamoase), carcinoame papilare tiroidiene (2/4), tumori hepatice (2/4), carcinoame cu celule scuamoase ale limbii (2/2), tumori metastatice de origine necunoscută (2/2), adenocarcinoame ale colonului (3/3), adenocarcinoame rectale (2/2), tumori cerebrale (1/2), carcinoame cu celule scuamoase ale esofagului (1/2), adenocarcinoame gastrice (1/2), tumori ale țesuturilor moi (1/2), carcinoame cu celule renale (1/2), carcinoame cu celule scuamoase ale colului uterin (1/2), tumori de piele (1/2), carcinom endometroid uterin (1/1), seminoame testiculare (0/2), carcinoame cu celule scuamoase ale laringelui (0/1) și tumoare carcinoidă atipică a timusului (0/1). (Numărul total al cazurilor tumorale evaluate = 86).

**p53 (DO-7) este recomandat pentru detectarea proteinei umane p53 în țesuturile normale și neoplazice, ca adjuvant al histopatologiei convenționale, utilizând coloranți histochimici non-imunologici.**

## Restricții specifice produsului

p53 (DO-7) a fost optimizată la Leica Biosystems pentru utilizarea cu BOND Polymer Refine Detection și cu reactivii auxiliari BOND. Utilizatorii care se abat de la procedurile de testare recomandate trebuie să accepte responsabilitatea pentru interpretarea rezultatelor pacientului în aceste circumstanțe. Timpii protocolului pot varia, datorită variației în fixarea țesutului și eficacității intensificării antigenului, și trebuie să fie determinați empiric. Atunci când se optimizează condițiile de recuperare și timpii protocolului, trebuie să fie utilizați reactivi de control negativ.

## Rezolvarea problemelor

Consultați referința 3 pentru acțiuni de remediere.

Contactați distribuitorul dumneavoastră local sau biroul regional al Leica Biosystems pentru raportarea colorării neobișnuite.

## Informații suplimentare

Informații suplimentare referitoare la imunocolorația cu reactivii BOND, sub titlurile Principiul procedurii, Materiale necesare, Pregătirea specimenului, Controlul calității, Verificarea analizei, Interpretarea colorării, Codul simbolurilor de pe etichete și Limitări generale pot fi găsite în „Utilizarea reactivilor BOND” din documentația dumneavoastră de utilizare a sistemului BOND.

## Bibliografie

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213–222.

11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

## **Data publicării**

03 octombrie 2018

# Готовое к применению первичное антитело BOND™ p53 (DO-7)

Номер по каталогу: PA0057

## Назначение

*Этот реактив предназначен для диагностики in vitro.*

Моноклональное антитело p53 (DO-7) предназначено для качественного определения человеческого белка p53 методом световой микроскопии в фиксированных формалином и залитых в парафин образцах тканей после иммуногистохимического окрашивания с использованием автоматизированной системы BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica).

Клиническая интерпретация любого окрашивания или его отсутствия должна быть дополнена морфологическими исследованиями с надлежащими контрольными исследованиями и должна быть оценена квалифицированным патологом с учетом анамнеза пациента и других диагностических тестов.

## Краткое изложение и пояснение

Иммуногистохимические методы можно использовать для выявления антигенов в тканях и клетках (см. «Применение реактивов BOND» в документации пользователя BOND). Первичное антитело p53 (DO-7) является готовым к применению продуктом, специально оптимизированным для использования в системе BOND Polymer Refine Detection. Подтверждение присутствия p53-протеина человека достигается, во-первых, за счет связывания p53 (DO-7) со срезом ткани с последующей визуализацией участка связывания, что осуществляется с использованием реактивов, которые предусмотрены системой обнаружения. Применение этих продуктов в сочетании с автоматизированной системой BOND снижает вероятность человеческой ошибки и вариабельность, присущую процессам разведения отдельных реактивов, ручного пипетирования и нанесения реактивов.

## Реактивы, входящие в комплект поставки

Реактив p53 (DO-7) представляет собой препарат моноклональных антител мыши к антигенам человека, который выпускается в форме супернатанта культуры ткани и поставляется в трис-солевом буферном растворе, содержащем белок-носитель, а также 0,35 % ProClip™ 950 в качестве консерванта.

Общий объем = 7 млб.

## Клон

DO-7.

## Иммуноген

Рекомбинантный человеческий белок немутантного типа p53.

## Специфичность

Человеческий белок p53 немутантного типа и мутантные формы как в денатурирующих, так и в неденатурирующих условиях.

## Подкласс

IgG2b.

## Общая концентрация белка

Примерно 10 мг/млб.

## Концентрация антитела

Концентрация выше или эквивалентна 0,06 мг/л при определении методом ИФА.

## Разведение и смешивание

Первичные антитела p53 (DO-7) имеют оптимальное разведение для применения в системе BOND. Этот реактив не нуждается в восстановлении, смешивании, разведении или титровании.

## Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

Полный список материалов, необходимых для обработки и иммуногистохимического окрашивания образцов с использованием системы BOND (включающей системы BOND-MAX и BOND-III компании Leica), представлен в разделе «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

## Хранение и стабильность

Хранить при температуре 2–8 °С. Не использовать после указанной на этикетке контейнера даты истечения срока годности.

Признаками, которые указывают на контаминацию и/или нестабильность реактива p53 (DO-7), являются: помутнение раствора, появление запаха и наличие преципитата (осадка).

Немедленно после применения вернуть на хранение при 2–8 °С.

Условия хранения, отличающиеся от указанных выше, должны быть верифицированы пользователем<sup>1</sup>.



## Меры предосторожности

- Данная продукция предназначена для диагностики in vitro.
- Концентрация ProClim™ 950 составляет 0,35 %. Продукт содержит в качестве активного ингредиента 2-метил-4-изотиазолин-Зон, и может вызывать раздражение глаз, кожи, слизистых оболочек и органов верхних дыхательных путей. При работе с реактивами надевайте одноразовые перчатки.
- Для получения копии паспорта безопасности химической продукции (Material Safety Data Sheet) обратитесь к местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems. В качестве альтернативы посетите веб-сайт компании Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com)
- С образцами (до и после фиксации) и всеми материалами, на которые они воздействуют, следует обращаться как с потенциально способными к передаче инфекции и утилизировать, соблюдая соответствующие меры предосторожности<sup>2</sup>. Никогда не набирайте реактивы в пилетку ртом. Избегайте контакта реактивов и образцов с кожей и слизистыми оболочками. В случае контакта реактивов или образцов с чувствительными зонами промойте их большим количеством воды. Обратитесь за медицинской помощью.
- По вопросам утилизации любых возможно токсических компонентов выполняйте требования федеральных, региональных или местных нормативных документов.
- Сводите к минимуму микробное загрязнение реактивов во избежание усиления неспецифического окрашивания.
- Нарушение указанных в инструкции правил демаскировки, времени инкубации и термической обработки может привести к ошибочным результатам. Любые подобные изменения должны быть валидированы пользователем.

## Инструкция по применению

Первичные антитела p53 (DO-7) были разработаны для использования в автоматизированной системе BOND в сочетании с BOND Polymer Refine Detection. Рекомендуемым протоколом иммуногистохимического окрашивания (ИГХ) с использованием первичных антител p53 (DO-7) является протокол F. Тепловую демаскировку эпитопа рекомендуется выполнять с применением восстанавливающего раствора BOND Epitope Retrieval Solution 2 в течение 20 минут.

## Ожидаемые результаты

### Нормальные ткани

Поскольку в здоровых тканях уровни белка p53 низкие, наблюдается только слабое окрашивание реактивом p53 (DO-7) в ядрах скрытых клеток слизистой оболочки и в лимфоидных агрегатах в кишечнике, в базальных эпителиальных клетках шейки матки и миндалин, в зародышевых центрах миндалин, в легочных пневмоцитах, кератиноцитах эпидермиса, в тканях семявыносящих трубочек яичек, а также в гипофизе и надпочечниках. (Общее число образцов здоровых тканей, которые были окрашены = 84).

### Ткани опухолей

Клон DO-7 окрашивал изучаемые опухоли в 56/86 случаев, включая опухоли молочной железы (28/41, в том числе 26/38 случаев протоковой карциномы, 1/1 случая филоидной опухоли, 1/1 случая филоидной цитосаркомы и 0/1 случая атипичной медуллярной карциномы), опухоли яичника (4/5 случаев, включая 2/2 случаев серозных карцином, 1/1 случая слизистой карциномы, 1/1 случая светлоклеточной карциномы и 0/1 случая карциномы зародышевых клеток), опухоли легкого (3/4, в том числе 2/3 случаев немелкоклеточного рака легкого и 1/1 случая плоскоклеточного рака легкого), папиллярные карциномы щитовидной железы (2/4 случаев), опухоли печени (2/4 случаев), случаи плоскоклеточного рака языка (2/2), случаи метастатических опухолей неизвестного происхождения (2/2), аденокарциномы толстой кишки (3/3), аденокарциномы прямой кишки (2/2), опухоли мозга (1/2) случаи плоскоклеточной карциномы пищевода (1/2), желудочных аденокарцином (1/2), опухоли мягких тканей (1/2), почечно-клеточные карциномы (1/2), плоскоклеточные карциномы шейки матки (1/2), опухоли кожи (1/2), случаи маточной эндометриоидной карциномы (1/1), семиномы яичек (0/2), случаи плоскоклеточной карциномы гортани (0/1) и атипичной карциноидной опухоли тимуса (0/1). (Общее число исследованных опухолей = 86).

**p53 (DO-7) рекомендуется использовать для обнаружения белка p53 человека в здоровых и пораженных опухолью тканях в качестве дополнения к обычным гистопатологическим исследованиям с неиммунным гистохимическим окрашиванием.**

## Ограничения, специфичные для этого продукта

p53 (DO-7) оптимизирован компанией Leica Biosystems для применения с системой BOND Polymer Refine Detection и вспомогательными реактивами BOND. Пользователи, отклоняющиеся от рекомендованных процедур анализа, должны брать на себя ответственность за интерпретацию результатов исследований пациентов, выполненных в таких условиях. Продолжительность выполнения протокола должна быть определена опытным путем и может различаться в связи с вариабельностью фиксации ткани и эффективности усиления антигена. При оптимизации условий демаскировки и длительности протокола следует использовать отрицательные контроли реактивов.

## Поиск и устранение неполадок

Действия по устранению неполадок описаны в (3).

С сообщениями о необычном окрашивании обращайтесь к своему местному дистрибьютору или в региональный офис компании Leica Biosystems.

## Дополнительная информация

Дополнительная информация по иммуногистохимическому окрашиванию с использованием реактивов BOND, содержится в рубриках «Принцип методов», «Необходимые материалы», «Подготовка образцов», «Контроль качества», «Проверка достоверности анализа», «Интерпретация окрашивания», «Значения символов в маркировке продукции» и «Ограничения общего характера» раздела «Применение реактивов BOND» документации пользователя системы BOND.

## Список литературы

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.

3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. *Cytopathology*. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. *British Journal of Cancer*. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. *Journal of Pathology*. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. *British Journal of Cancer*. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. *Journal of Clinical Pathology*. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. *American Journal of Pathology*. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology*. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

## **Дата выпуска**

03 Октябрь 2018

# Gotowe do użycia przeciwciało BOND™

## p53 (DO-7)

Nr katalogowy: PA0057

### Przeznaczenie

Ten odczynnik jest przeznaczony do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Przeciwciało monoklonalne p53 (DO-7) służy do identyfikacji jakościowej z zastosowaniem mikroskopii świetlnej ludzkiego białka p53 w tkance utrwalonej w formalinie i zatopionej w parafinie za pomocą barwienia immunohistochemicznego przy użyciu automatycznego systemu BOND (w tym systemów Leica BOND-MAX i Leica BOND-III).

Kliniczną interpretację wybarwienia lub jego braku należy uzupełnić badaniami morfologicznymi oraz odpowiednimi kontrolami. Oceny powinien przeprowadzić wykwalifikowany patolog w kontekście historii choroby pacjenta oraz innych badań diagnostycznych.

### Podsumowanie i objaśnienie

Techniki immunohistochemiczne można stosować do wykazania obecności antygenów w tkankach i komórkach (patrz punkt „Używanie odczynników BOND” w dokumentacji dla użytkownika odczynników BOND). Przeciwciało pierwszorzędowe p53 (DO-7) jest gotowym do użycia produktem, specjalnie zoptymalizowanym pod kątem stosowania z BOND Polymer Refine Detection. Obecność ludzkiego białka p53 jest wykazywana w pierwszej kolejności przez umożliwienie wiązania p53 (DO-7) ze skrawkiem, a następnie wizualizację tego wiązania za pomocą odczynników znajdujących się w systemie detekcji. Używanie tych produktów, w połączeniu z automatycznym systemem BOND ogranicza prawdopodobieństwo popełnienia błędu przez człowieka i nieodłączną zmienność wynikającą z indywidualnego rozcieńczania odczynnika, ręcznego pipetowania i stosowania odczynnika.

### Odczynniki znajdujące się w zestawie

p53 (DO-7) jest myśmim anti-ludzkim przeciwciałem monoklonalnym, produkowanym jako oczyszczony supernatant hodowli tkankowej i dostarczonym w roztworze soli fizjologicznej buforowanej odczynnikiem Tris z białkiem nośnikowym, konserwowanym 0,35 % ProClin™ 950. Łączna objętość = 7 ml.

### Klon

DO-7.

### Immunogen

Rekombinowane ludzkie białko p53 typu dzikiego.

### Swoistość

Ludzkie białko p53 typu dzikiego i formy zmutowane w warunkach denaturujących i niedenaturujących.

### Podklasa

IgG2b.

### Całkowite stężenia białka

Okolo 10 mg/ml.

### Stężenie przeciwciał

Większe lub równe 0,06 mg/L oznaczone za pomocą testu ELISA.

### Rozcieńczanie i mieszanie.

p53 (DO-7) zostało specjalnie zoptymalizowane pod kątem użycia z systemem BOND Polymer Refine Detection. W przypadku tego odczynnika nie jest konieczne dodawanie wody, mieszanie, rozcieńczanie ani miareczkowanie.

### Wymagane materiały niedołączone do zestawu

W rozdziale „Korzystanie z odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika BOND podano pełną listę materiałów wymaganych do przygotowania próbki i barwienia immunohistochemicznego przy użyciu systemu BOND.

### Przechowywanie i trwałość

Przechowywać w temperaturze 2 °C–8 °C. Nie używać po upływie daty ważności podanej na etykiecie pojemnika.

Oznaki skażenia i/lub niestabilności przeciwciała p53 (DO-7) są następujące: zmętnienie roztworu, pojawienie się zapachu i obecność osadu.

Niezwłocznie po użyciu ponownie umieścić w temperaturze 2-8 °C.

Przechowywanie w warunkach innych od wskazanych powyżej wymaga weryfikacji użytkownika<sup>1</sup>.

### Środki ostrożności

- Ten odczynnik jest przeznaczony do diagnostyki *in vitro*
- Stężenie ProClin™ 950 wynosi 0,35 %. Zawiera składnik czynny, metyloizotiazolinon, który może powodować podrażnienie skóry, oczu, błon śluzowych i górnych dróg oddechowych. Podczas pracy z odczynnikami należy nosić rękawice jednorazowego użytku.
- Aby otrzymać egzemplarz karty charakterystyki, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub regionalnym biurem Leica Biosystems, lub odwiedzić stronę internetową, [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

- Z preparatami przed utwaleniem i po utwaleniu, jak również ze wszystkimi materiałami, które mają z nimi styczność, należy obchodzić się tak, jak z materiałami potencjalnie zakaźnymi i należy je utylizować, zachowując odpowiednie środki ostrożności.<sup>2</sup> Podczas pobierania pipetą nie wolno zasysać odczynników ustami i należy unikać kontaktu odczynników i preparatów ze skórą oraz błonami śluzowymi. W razie kontaktu odczynników lub próbek ze szczególnie narażonymi miejscami przemyć miejsce kontaktu dużą ilością wody. Należy zasięgnąć porady lekarza.
- Wszelkie potencjalnie toksyczne składniki należy utylizować zgodnie z krajowymi lub lokalnymi przepisami.
- Chronić odczynnik przed skażeniem drobnoustrojami, ponieważ może ono doprowadzić do zwiększonego barwienia niespecyficznego.
- Zastosowanie czasów odmaskowywania, inkubacji lub temperatur innych niż podano w instrukcji może spowodować błędne wyniki. Wszelkie zmiany tego typu muszą zostać zweryfikowane przez użytkownika.

## Instrukcja stosowania

Przeciwciała pierwszorzędowe p53 (DO-7) zostało opracowane z myślą o zastosowaniu w automatycznym systemie BOND w połączeniu z BOND Polymer Refine Detection. Zalecany protokół barwienia dla przeciwciała pierwszorzędowego p53 (DO-7) to IHC Protocol F. Zaleca się ciepłe odmaskowywanie epitopu przy użyciu roztworu BOND Epitope Retrieval Solution 2 przez 20 minut.

## OCzekiwane wyniki

### Tkanki prawidłowe

Ze względu na niski poziom białka p53 w tkankach prawidłowych, barwienie przy pomocy p53 (DO-7) jest słabe w jądrze komórek śluzowych krypt i skupiskach limfoidalnych w jelicie, podstawnych komórkach nabłonka szyjki macicy i migdałka, ośrodkach zarodkowych migdałków, pneumocytach w płucach, keratynocytach naskórka, kanalikach nasiennych jąder oraz przysadce i nadnerzjach. (Łączna liczba prawidłowych przypadków = 84)

### Tkanki nowotworowe

Klon DO-7 wybarwił 56/86 zbadane guzy, w tym guzy sutka (28/41, w tym 26/38 raki przewodowe, 1/1 guza liściastego, 1/1 mięsakaorka liściastego i 0/1 atypowych raków rdzeniastych), guzy jajnika (4/5, w tym 2/2 raki surowicze, 1/1 raka śluzowego, 1/1 raka jasnokomórkowego i 0/1 guzów zarodkowych), guzy płuc (3/4, w tym 2/3 raki niedrobнокomórkowe i 1/1 raka płaskonabłonkowego), raki brodawkowe tarczycy (2/4), guzy wątroby (2/4), raki płaskonabłonkowe języka (2/2), guzy przerzutowe o nieznanym pochodzeniu (2/2), gruczolakoraki okrężnicy (3/3), gruczolakoraki odbytnicy (2/2), guzy mózgu (1/2), raka płaskonabłonkowego przełyku (1/2), gruczolakoraka żołądka (1/2), guza tkanki miękkich (1/2), raka nerwowokomórkowego (1/2), raka płaskonabłonkowego szyjki macicy (1/2), nowotwory skóry (1/2), raka macicy endometrioidalnej (1/1), nasieniaki jąder (0/2), raki płaskonabłonkowe krtani (0/1) i atypowego rakowiaka grasicy (0/1). (Łączna liczba ocenionych przypadków raków = 86).

**Zaleca się stosowanie p53 (DO-7) do wykrywania ludzkiego białka p53 w tkankach zdrowych i nowotworowych, jako uzupełnienie konwencjonalnego badania histopatologicznego opartego na nieimmunologicznym barwieniu histologicznym.**

## Szczególne ograniczenia dla produktu

Przeciwciała p53 (DO-7) zostało zoptymalizowane w Leica Biosystems do stosowania z BOND Polymer Refine Detection i pomocniczymi odczynnikami BOND. W tych okolicznościach użytkownicy, którzy postępują niezgodnie z zalecanymi procedurami testowymi muszą wziąć odpowiedzialność za interpretację wyników chorego. Czasy protokołu mogą być różne w związku ze zróżnicowaniem w zakresie utwalenia tkanek i skuteczności wzmocnienia przez przeciwciała i należy je określić doświadczalnie. Odczynnik kontroli ujemnej należy stosować podczas optymalizacji warunków odmaskowywania i czasów protokołu.

## Rozwiązywanie problemów

W celu uzyskania dalszych informacji dot. działań zaradczych zob. odsyłacz 3.

W celu zgłoszenia nietypowego barwienia należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub z regionalnym biurem firmy Leica Biosystems.

## Dodatkowe informacje

Dodatkowe informacje dotyczące immunobarwienia przy użyciu odczynników BOND opisanego w rozdziałach „Zasady postępowania”, „Wymagane materiały”, „Przygotowanie próbek”, „Kontrola Jakości”, „Weryfikacja testu”, „Interpretacja barwienia”, „Objaśnienie symboli na etykietach” i „Ograniczenia ogólne” można znaleźć w punkcie „Stosowanie odczynników BOND” w dokumentacji użytkownika systemu BOND.

## Bibliografia

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.

10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. *International Journal of Surgical Pathology*. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brothrick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

#### **Data publikacji**

03 października 2018

# Primarno protitelo BOND™ pripravljeno za uporabo p53 (DO-7)

Katalogška št.: PA0057

## Predvidena uporaba

*Ta reagent je namenjen diagnostični uporabi in vitro.*

Monoklonsko protitelo p53 (DO-7) je namenjeno kvalitativni identifikaciji molekule človeške beljakovine p53 s svetlobno mikroskopijo v tkivih, fiksiranih s formalinom in vstavljenih v parafin, z imunohistokemijskim barvanjem z uporabo avtomatiziranega sistema BOND (vključuje sistem Leica BOND-MAX in sistem Leica BOND-III).

Klinično razlago kakršnega koli obarvanja ali odsotnosti le-tega morajo dopoljevati morfološke študije in ustrezni kontrolni vzorci, ki jih v okviru klinične anamneze bolnika in drugih diagnostičnih testov oceni usposobljen patolog.

## Povzetek in razlaga

Imunohistokemijske tehnike se lahko uporabijo za prikaz prisotnosti antigenov v tkivih in celicah (glejte "Uporaba reagentov BOND" v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND). Primarno protitelo p53 (DO-7) je vnaprej pripravljen izdelek, ki je bil specifično optimiziran za uporabo s sistemom za izpopolnjeno polimerno zaznavanje BOND Polymer Refine Detection. Prikaz humanega proteina p53 se doseže tako, da se najprej dovoli vezava protitelesa p53 (DO-7) na rezino, nato pa se ta vezava prikaže z uporabo reagentov v sistemu za zaznavanje. Uporaba teh izdelkov, skupaj z avtomatiziranim sistemom BOND, zmanjša možnost človeške napake in variabilnosti, ki sama po sebi izhaja iz redčenja posameznega reagenta, ročnega pipetiranja in nanosa reagenta.

## Priloženi reagenti

p53 (DO-7) je mišje monoklonsko protitelo, usmerjeno proti humanim antigenom, ki je izdelano kot supernatant tkivne kulture in dobavljeno v fiziološki raztopini s pufrom tris, nosilno beljakovino in 0,35 % konzervansa ProClin™ 950.

Skupna prostornina = 7 ml.

## Klon

DO-7

## Imunogen

Rekombinantni človeški protein p53 divjega tipa.

## Specifičnost

Divji tip človeškega proteina p53 in mutirana oblika nastajata v denaturiranih in nedenedaturiranih pogojih.

## Podrazred

IgG2b

## Skupna koncentracija beljakovin

Približno 10 mg/ml.

## Koncentracija protiteles

Višja ali enaka 0,06 mg/l, določena s testom ELISA.

## Redčenje in mešanje

Primarno protitelo p53 (DO-7) je optimalno razredčeno za uporabo na sistemu BOND. Rekonstitucija, mešanje, redčenje ali titracija tega reagenta niso potrebni.

## Potrebni materiali, ki niso priloženi

Za celoten seznam materialov, potrebnih za obdelavo vzorcev in imunohistokemijsko barvanje pri uporabi sistema BOND, glejte poglavje »Uporaba reagentov BOND« v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND.

## Shranjevanje in stabilnost

Hraniti pri temperaturi 2–8 °C. Ne uporabljajte po datumu izteka roka uporabnosti, navedenem na oznaki na vsebniku.

Znaki, ki kažejo kontaminacijo in/ali nestabilnost protitelesa p53 (DO-7), so: motnost raztopine, prisotnost vonja in oborine.

Takoj po uporabi ohladite na temperaturo 2–8 °C.

Uporabnik mora potrditi ustreznost pogojev shranjevanja, če se ti razlikujejo od zgoraj navedenih<sup>1</sup>.

## Previdnosti ukrepi

- Ta izdelek je namenjen za diagnostično uporabo in vitro.
- Koncentracija konzervansa ProClin™ 950 je 0,35 %. Vsebuje aktivno učinkovino 2-metil-4-izotiazolin-3-on in lahko povzroči draženje kože, oči, sluznice ter zgornjih dihalnih poti. Kadar delate z reagenti, nosite rokavice za enkratno uporabo.
- Kopijo varnostnega lista lahko dobite pri lokalnem distributerju ali regionalni pisarni družbe Leica Biosystems ali na spletnem mestu [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).
- Z vzorci, pred fiksiranjem in po njem, in vsemi materiali, s katerimi so prišli v stik, morate rokovati, kot da bi lahko prenašali okužbe, in pri njihovem odstranjevanju upoštevati ustrezne previdnostne ukrepe.<sup>2</sup> Nikoli ne pipetirajte reagentov skozi usta; pazite, da reagenti in vzorci ne pridejo v stik s kožo ali sluznicami. Če reagenti ali vzorci pridejo v stik z občutljivimi deli, jih izperite z obilo vode. Poiščite zdravniško pomoč.

- Sledite zveznim, državnim ali lokalnim predpisom za odstranjevanje katerih koli morebitno strupenih sestavin.
- Pazite, da ne pride do mikrobné okužbe reagentov, saj lahko povzročí nespecifično barvanje.
- Če uporabite čas ali temperature razkrivanja in inkubacije, ki se razlikujejo od navedenih, lahko pridobite napačne rezultate. Uporabnik mora validirati morebitne spremembe.

## Navodila za uporabo

Primarno protitelo p53 (DO-7) je bilo razvito za uporabo na avtomatiziranem sistemu BOND skupaj s sistemom BOND Polymer Refine Detection. Priporočni protokol barvanja za primarno protitelo p53 (DO-7) je protokol IHC Protocol F. Za toplotno pridobivanje epitopa se priporoča uporaba raztopine BOND Epitope Retrieval Solution 2 za 20 minut.

## Pričakovani rezultati

### Normalna tkiva

Zaradi nizkih ravni proteina p53 v normalnih tkivih je obarvanje s protitelesi p53 (DO-7) v jedru celicah kripe sluznice in limfoidnih agregatih v črevesu, celicah bazalnega epitelija v materničnem vratu in tonzilah, germinalnih centrih tonzil, pnevmocitih v pljučih, keratinocitih pokožnice, semenskih cevkah v testisih ter v hipofizi in nadledvični žlezi šibko. (Skupno število obarvanih normalnih preparatov = 84).

### Tumorska tkiva

Klon DO-7 je obarval 56/86 ocenjenih tumorjev, vključno s tumorji dojke (28/41, vključno s 26/38 duktalnih karcinomov, 1/1 filioidnega tumorja, 1/1 filioidnega citosarkoma in 0/1 atipičnega medularnega karcinoma), tumorji jajčnikov (4/5, vključno s 2/2 seroznih karcinomov, 1/1 mucinoznega karcinoma, 1/1 jasnoceličnega karcinoma in 0/1 tumorji germinativnih celic), pljučnimi tumorji (3/4, vključno s 2/3 nedrobnoceličnih karcinomov in 1/1 karcinoma skvamoznih celic), papilarnimi karcinomi ščitnice (2/4), jetrnimi tumorji (2/4), karcinomi skvamoznih celic jezika (2/2), metastatskimi tumorji neznanega izvora (2/2), adenokarcinomi kolona (3/3), adenokarcinomi rektuma (2/2), možganskimi tumorji (1/2), karcinomi skvamoznih celic požiralnika (1/2), adenokarcinomi želodca (1/2), tumorji mehkih tkiv (1/2), karcinomi ledvičnih celic (1/2), karcinomi skvamoznih celic materničnega vratu (1/2), tumorji kože (1/2), endometrioidnimi karcinomi maternice (1/1), seminomi testisov (0/2), karcinomom skvamoznih celic grla (0/1) in atipičnim karcinoidnim tumorjem priželjca (0/1). (Skupno število ocenjenih primerov s tumorji = 86).

**izdelek p53 (DO-7) se priporoča za zaznavanje človeške beljakovine p53 v normalnih in neoplastičnih tkivih kot dodatna analiza ob konvencionalni histopatologiji z uporabo neimunskih histokemičnih barvil.**

## Specifične omejitve izdelka

Družba Leica Biosystems je protitelo p53 (DO-7) optimizirala za uporabo s sistemom BOND Polymer Refine Detection in pomožnimi reagenti BOND. Uporabniki, ki odstopijo od priporočenih preizkusnih postopkov, morajo prevzeti odgovornost za razlago bolnikovih rezultatov pod temi pogoji. Trajanje protokola se lahko spremeni zaradi razlik pri fiksiranju tkiv in učinkovitosti izboljšave antigena ter se mora določiti empirično. Uporabiti morate negativne kontrolne reagente, kadar optimizirate pogoje razkrivanja in trajanje protokola.

## Odpravljanje težav

Glejte 3. navedbo za ukrep za odpravljanje napake.

Če želite poročati o nenavadnem obarvanju, se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali regionalno pisarno družbe Leica Biosystems.

## Dodatne informacije

Dodatne informacije o imunološkem barvanju z reagenti BOND lahko najdete v priloženi dokumentaciji za uporabnike sistema BOND »Uporaba reagentov BOND« v poglavjih Načelo postopka, Potrebni materiali, Priprava vzorcev, Kontrola kakovosti, Verifikacija testa, Tolmačenje obarvanja, Legenda za simbole na oznakah in Splošne omejitve.

## Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. Archivos Espanoles de Urologia. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. Journal of Pathology. 1997; 183:418–423.

13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

**Datum izdaje**

03 oktober 2018



# BOND™ Primární protilátka připravená k použití p53 (DO-7)

Kat. č.: PA0057

## Zamýšlené použití

*Tato reagensie je určena k diagnostickému použití in vitro.*

Monoklonální protilátka p53 (DO-7) je určena k použití při kvalitativním stanovení lidského proteinu p53 světelnou mikroskopií ve tkáni fixované formalinem a zalité v parafínu imunohistochemickým barvením pomocí automatického systému BOND system (včetně systému Leica BOND-MAX system a Leica BOND-III system).

Klinickou interpretaci jakéhokoli barvení nebo jeho nepřítomnosti je nutné doplnit morfologickým vyšetřením s použitím správných kontrol a zhodnotit je musí kvalifikovaný patolog v kontextu s klinickou anamnézou pacienta a jinými diagnostickými testy.

## Souhrn a vysvětlení

Imunohistochemické techniky lze použít k průkazu přítomnosti antigenů ve tkáni a v buňkách (viz „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND). Primární protilátka p53 (DO-7) je produkt připravený k použití, který byl specificky optimalizován k použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Průkazu lidského proteinu p53 se dosáhne tím, že se nejprve umožní vazba p53 (DO-7) na řezu, a poté se tato vazba vizualizuje pomocí reagensí dodaných v detekčním systému. Použití těchto produktů v kombinaci s automatickým systémem BOND system snižuje možnost lidské chyby a inherentní variability v důsledku ředění jednotlivých reagensí, manuálního pipetování a použití reagensí.

## Dodávané reagensie

p53 (DO-7) je myši monoklonální protilátka proti lidským antigenům vyráběná jako supernatant z tkáňové kultury a dodávaná ve fyziologickém roztoku pufovaném Tris s přenašejícím proteinem, obsahující jako konzervační prostředek 0,35 % ProClin™ 950.

Celkový objem = 7 ml.

## Klon

DO-7.

## Imunogen

Rekombinantní lidský protein p53 divokého typu.

## Specifita

Lidský protein p53 divokého typu a mutantní formy v denaturovaném a nedenaurovaném stavu.

## Podtřída

IgG2b.

## Koncentrace celkového proteinu

Přibližně 10 mg/ml.

## Koncentrace protilátek

0,06 mg/l nebo vyšší, stanovená metodou ELISA.

## Ředění a míchání

Primární protilátka p53 (DO-7) je optimálně naředěná k použití v systému BOND system. Rekonstituce, míchání, ředění ani titrace této reagensie nejsou nutné.

## Potřebný materiál, který není součástí dodávky

Úplný seznam materiálů požadovaných pro úpravu vzorku a imunohistochemické barvení s použitím systému BOND system je uveden v bodě „Použití reagensí BOND“ v uživatelské dokumentaci BOND.

## Skladování a stabilita

Uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku nádoby.

Známky signalizující kontaminaci a/nebo nestabilitu p53 (DO-7) jsou: zkalení roztoku, vznik zápachu a přítomnost precipitátů.

Okamžitě po použití vraťte do prostředí s teplotou 2–8 °C.

Podmínky skladování jiné než výše uvedené musí uživatel validovat<sup>1</sup>.

## Bezpečnostní opatření

- Tento produkt je určen pouze pro diagnostické použití in vitro.
- Koncentrace přípravku ProClin™ 950 je 0,35 %. Obsahuje aktivní složku 2-methyl-4-isothiazolin-3-on a může způsobit podráždění kůže, očí, sliznic a horních cest dýchacích. Při manipulaci s reagensiemi používejte rukavice na jedno použití.
- Výřitek bezpečnostního listu materiálu získáte od místního distributora nebo oblastní kanceláře společnosti Leica Biosystems, nebo můžete navštívit webovou stránku Leica Biosystems: [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).
- Se vzorky, před fixací i po fixaci, a se všemi materiály, které s nimi přišly do kontaktu, je nutno zacházet, jako by mohly přenášet infekci, a zlikvidovat je s použitím příslušných bezpečnostních opatření<sup>2</sup>. Nikdy reagensie nepipetujte ústy a zabraňte kontaktu reagensí a vzorků s kůží a sliznicemi. Pokud se reagensie nebo vzorky dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je velkým množstvím vody. Vyhledejte lékařskou pomoc.

- Údaje o likvidaci jakýchkoli potenciálně toxických komponent prostudujte ve federálních, státních nebo místních nařízeních.
- Minimalizujte mikrobiální kontaminaci reagensů, mohlo by dojít ke zvýšení výskytu nespecifického barvení.
- Odmaskování, inkubační doby nebo teploty jiné než specifikované mohou vést k chybným výsledkům. Všechny takové změny musí být uživatelem validovány.

## Návod k použití

Primární protilátka p53 (DO-7) byla vyvinuta k použití v automatickém systému BOND system v kombinaci se soupravou BOND Polymer Refine Detection. Protokol doporučeného barvení primární protilátky p53 (DO-7) je imunohistochemický protokol F. Teplem indukované odmaskování epitopu se doporučuje s použitím roztoku BOND Epitope Retrieval Solution 2 po dobu 20 minut.

## Očekávané výsledky

### Normální tkáně

Kvůli nízkým hladinám proteinu p53 u normálních tkání je barvení p53 (DO-7) slabé u jádra mukózních kryptických buněk a lymfoidních agregátů ve střevě, bazálních epitelálních buněk hrdla děložního a tonzil, germinálních center tonzil, pneumocytů v plicích, keratinocytů epidermis, semenných tubulech varlat a v hypofýze a nadledvinách. (Celkový počet normálních barvených tkání = 84)

### Nádorové tkáně

Klon DO-7 barvil 56/86 vyšetřovaných nádorů, včetně nádorů prsu (28/41, včetně 26/38 ductálních karcinomů, 1/1 lymfoidního nádoru, 1/1 nádoru cystosarcoma phylloides a 0/1 atypického medulárního karcinomu), ovariálních nádorů (4/5, včetně 2/2 serózních karcinomů, 1/1 mucinózního karcinomu, 1/1 clear cell karcinomu, a 0/1 nádoru zárodečných buněk), nádorů plic (3/4, včetně 2/3 nemalobuněčných karcinomů 1/1 karcinomu skvamózních buněk), thyroïdních papilárních karcinomů (2/4), nádorů jater (2/4), karcinomů skvamózních buněk jazyka (2/2), metastatických nádorů neznámého původu (2/2), adenokarcinomů tlustého střeva (3/3), adenokarcinomů rekta (2/2), nádorů mozku (1/2), karcinomů skvamózních buněk jicnu (1/2), adenokarcinomů žaludku (1/2), nádorů měkkých tkání (1/2), karcinomů renálních buněk (1/2), karcinomů skvamózních buněk děložního hrdla (1/2), nádorů kůže (1/2), děložních endometrioidních karcinomů (1/1), testikulárních seminomů (0/2), karcinomu skvamózních buněk hrtanu (0/1) a atypického karcinoidního nádoru thymu (0/1).

(Celkový počet vyšetřovaných nádorů = 86).

**p53 (DO-7) se doporučuje k detekci lidského proteinu p53 v normálních a neoplastických tkáních jako doplněk ke konvenční histopatologii s použitím neimunologických histochemických nátěrů.**

## Omezení specifická pro tento produkt

Molekula p53 (DO-7) byla společností Leica Biosystems optimalizována pro použití se soupravou BOND Polymer Refine Detection a s pomocnými reagensy BOND. Uživatelé, kteří se při vyšetření odchýlí od doporučeného postupu, musí za těchto okolností přijmout odpovědnost za interpretaci výsledků u pacienta. Doby uvedené v protokolu se mohou lišit v důsledku odchylek při fixaci tkání a účinnosti při zvýraznění antigenu a musí být stanoveny empiricky. Při optimalizaci podmínek pro odmaskování a pro doby v protokolu musí být použity reagenty pro negativní kontrolu.

## Řešení problémů

Nápravná opatření jsou uvedena v odkaze 3.

S hlášením neobvyklého barvení kontaktujte místního distributora nebo oblastní kancelář společnosti Leica Biosystems.

## Další informace

Další informace o imunobarvení reagensy BOND naleznete pod názvy Princip metody, Potřebné materiály, Příprava vzorku, Kontrola kvality, Ověření testů, Interpretace barvení, Vysvětlení symbolů na štítcích a Obecná omezení v uživatelské dokumentaci BOND, v bođě „Použití reagensů BOND“.

## Literatura

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Horne GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213–222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. Archivos Espanoles de Urologia. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. Journal of Pathology. 1997; 183:418–423.

13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Ófner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

**Datum vydání**

03 říjen 2018

# BOND™ Pripravené na Použitie Primárne Protilátky p53 (DO-7)

Katalógové č.: PA0057

## Zamýšľané použitie

*Toto činidlo je určené na diagnostické použitie in vitro.*

Monoklonálna protilátka p53 (DO-7) je určená na použitie pri kvalitatívnej identifikácii ľudského proteínu p53 svetelnou mikroskopiou v tkanive fixovanom formalínom a zaliatom do parafínu prostredníctvom imunohistochemického farbenia s použitím automatizovaného systému BOND (zahŕňa systémy Leica BOND-MAX a Leica BOND-III).

Klinická interpretácia akéhokoľvek zafarbenia alebo jeho absencie musí byť kombinovaná s morfológickými vyšetreniami a zodpovedajúcimi kontrolami. Výsledky je nutné vyhodnotiť v kontexte klinickej anamnézy pacienta a ďalších diagnostických testov vedených kvalifikovaným patológom.

## Zhrnutie a vysvetlenie

Imunohistochemické techniky možno použiť na preukázanie prítomnosti antigénov v tkanivách a bunkách (pozrite si časť „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND). Primárna protilátka p53 (DO-7) je produkt pripravený na okamžité použitie, ktorý bol špecificky optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection. Preukázanie ľudského proteínu p53 sa vykonáva tak, že najprv sa umožní väzba prípravku p53 (DO-7) na rez a táto väzba sa následne vizualizuje pomocou činidiel poskytnutých v detekčnom systéme. Použitie týchto produktov v spojitosti s automatizovaným systémom BOND znižuje možnosť ľudskej chyby a inherentnej variability vyplývajúcej z individuálneho nariadenia činidiel, manuálneho pipetovania a aplikácie činidiel.

## Dodané činidlá

p53 (DO-7) je myšia anti-ľudská monoklonálna protilátka vyprodukovaná ako supernatant bunkových kultúr a dodávaná v tris-pufrovanom fyziologickom roztoku s transportným proteínom, obsahujúca 0,35 % prípravku ProClin™ 950 ako konzervačnej látky. Celkový objem = 7 ml.

## Klon

DO-7.

## Imunogén

Rekombinantný ľudský proteín p53 divokého typu.

## Špecifita

Ľudský p53 proteín divokého typu a mutančný proteín sa formujú pri denaturovaných i nedenaturovaných podmienkach.

## Podtrieda

IgG2b.

## Celková koncentrácia proteínov

Cca 10 mg/ml.

## Koncentrácia protilátok

Vyššia alebo rovnaká ako 0,06 mg/l podľa ELISA.

## Riedenie a miešanie

Primárna protilátka p53 (DO-7) je optimálne zriadená na použitie v systéme BOND. Rekonštitúcia, miešanie, riedenie ani titrácia tohto činidla nie sú potrebné.

## Požadovaný nedodaný materiál

Úplný zoznam materiálov potrebných na prípravu vzorky a imunohistochemické zafarbenie pomocou systému BOND si pozrite v časti „Používanie činidiel BOND“ v používateľskej dokumentácii k systému BOND.

## Uskladnenie a stabilita

Skladujte pri teplote 2 – 8 °C. Nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedeného na štítku zásobníka.

Známky signalizujúce kontamináciu alebo nestabilitu prípravku p53 (DO-7) sú: zakalenosť roztoku, vznik zápachu a prítomnosť zrazeniny.

Okamžite po použití vráťte do teploty 2 – 8 °C.

Iné než vyššie uvedené podmienky skladovania si vyžadujú validáciu používateľom<sup>1</sup>.

## Bezpečnostné opatrenia

- Tento produkt je určený na diagnostické použitie in vitro.
- Koncentrácia produktu ProClin™ 950 je 0,35 %. Obsahuje aktívnu zložku 2-metyl-4-izotiazolín-3-ón a môže spôsobiť podráždenie kože, očí, sliznic a horných dýchacích ciest. Pri manipulácii s činidlami používajte jednorazové rukavice.
- Materiálový bezpečnostný list vám poskytne miestny distribútor alebo regionálna pobočka spoločnosti Leica Biosystems, prípadne navštívte webovú lokalitu spoločnosti Leica Biosystems [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).

- So vzorkami pred fixáciou a po nej a všetkými materiálmi, ktoré s nimi prišli do kontaktu, je nutné manipulovať ako s potenciálne infekčnými a zlikvidovať ich pri dodržaní zodpovedajúcich bezpečnostných opatrení<sup>2</sup>. Činidlá nikdy nepipetujte ústami a zabráňte kontaktu činidiel a vzoriek s kožou a sliznicami. Ak sa činidlo alebo vzorky dostanú do kontaktu s citlivými oblasťami, umyte ich veľkým množstvom vody. Vyhľadajte lekársku pomoc.
- Likvidáciu prípadných potenciálne toxických súčastí definujú federálne, štátne alebo miestne predpisy.
- Minimalizujte mikrobiálnu kontamináciu činidiel. V opačnom prípade môže dôjsť k zvýšeniu nešpecifického zafarbenia.
- Nedodržanie predpísaných dôb záchytu, inkubačných dôb alebo teplôt môže viesť k nesprávnym výsledkom. Všetky takéto zmeny si vyžadujú validáciu používateľom.

## Návod na použitie

Prímarna protilátka p53 (DO-7) bola vytvorená na použitie v automatizovanom systéme BOND v spojitosti so systémom BOND Polymer Refine Detection. Odporúčajú protokol farbenia pre primárnu protilátku p53 (DO-7) je IHC Protocol F. Záchyt epitopov s tepelnou indukciou sa odporúča s použitím roztoku BOND Epitope Retrieval Solution 2 na 20 minút.

## Očakávané výsledky

### Normálne tkanivá

Vzhľadom na nízke hladiny proteínu p53 v normálnych tkanivách je zafarbenie s p53 (DO-7) slabé v jadre buniek krysálnej sliznice a lymfatických agregátov v čreve, bazálnych epitelových bunkách krčka maternice a mandlí, germinálnych centier mandlí, pneumocytov pľúc, keratinocytov pokožky, semenníkových tubulov semenníkov a v hypofýze a nadobličkách. (Celkový počet normálnych zafarbení = 84)

### Nádorové tkanivá

Klon DO-7 zafarbil 56/86 hodnotených nádorov, vrátane nádorov prsníka (28/41, vrátane 26/38 dukálneho karcinómu, 1/1 fyloidného nádoru, 1/1 fyloidného cytosarkómu a 0/1 atypického medulárneho karcinómu), ovariálnych nádorov (4/5, vrátane 2/2 serózných karcinómov, 1/1 mucinózneho karcinómu, 1/1 číreho karcinómu buniek a 0/1 nádoru zárodočných buniek), pľúcnych nádorov (3/4, vrátane 2/3 nemalobunkových karcinómov a 1/1 karcinómu dlaždicových buniek), papilárnych karcinómov štítnej žľazy (2/4), nádorov pečene (2/4), karcinómov dlaždicových buniek jazyka (2/2), metastatických nádorov s neznámym pôvodom (2/2), adenokarcinómov hrubého čreva (3/3), adenokarcinómov konečníka (2/2), nádorov mozgu (1/2), skvamóznych buniek karcinómov pažeráka (1/2), adenokarcinómov žalúdka (1/2), nádorov mäkkých tkanív (1/2), karcinómov renálnych buniek (1/2), karcinómov dlaždicových buniek krčka maternice (1/2), kožných nádorov (1/2), endometrioidného karcinómu maternice (1/1), testikulárnych seminómov (0/2), skvamózneho karcinómu hrtanu (0/1) a atypického karcinoidu alebo týmusu (0/1). (Celkový počet vyšetrených nádorov = 86).

**p53 (DO-7) je odporúčaným prostriedkom na detekciu proteínu ľudského p53 v normálnych a neoplastických tkanivách ako doplnku ku konvenčnej histopatológii za použitia neimunologických histochemických farbení.**

## Špecifické obmedzenia pre tento výrobok

p53 (DO-7) bol v spoločnosti Leica Biosystems optimalizovaný na použitie so systémom BOND Polymer Refine Detection a pomocnými činidlami BOND. Používateľia, ktorí sa odchyľia od odporúčaných testovacích postupov, musia akceptovať zodpovednosť za interpretáciu výsledkov pacienta za týchto okolností. Časy podľa protokolu sa môžu líšiť z dôvodu odchylov vo fixácii tkaniva a účinnosti zvýraznenia antigénu a musia sa zistiť empiricky. Pri optimalizácii podmienok záchytu a časov podľa protokolov je potrebné použiť negatívne kontroly činidlom.

## Riešenie problémov

Pri náprave môže byť nápomocná referencia 3.

Neobvyklé zafarbenie ohláste miestnemu distribútorovi alebo regionálnej pobočke spoločnosti Leica Biosystems.

## Ďalšie informácie

Ďalšie informácie o imunofarbení s činidlami BOND nájdete v častiach Princíp postupu, Požadované materiály, Príprava vzorky, Kontrola kvality, Overenie testu, Interpretácia zafarbenia, Legenda k symbolom na označení a Všeobecné obmedzenia v používateľskej dokumentácii k systému BOND „Používanie činidiel BOND“.

## Literatúra

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178–186.
5. Home GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29–35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166–175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117–1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in phaeochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443–448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067–2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213–222.

11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. *Archivos Espanoles de Urologia*. 1999; 52(8):840–848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. *Journal of Pathology*. 1997; 183:418–423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 1995; 41(3):146–150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. *Journal of Pathology*. 1995; 177:129–134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. *Journal of Pathology*. 1995; 176:69–75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. *Journal of Pathology*. 1994; 172:5–12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. *Journal of Pathology*. 1994; 172:13–18.
18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

### **Dátum vydania**

03 október 2018

# BOND™ تيلولاً ةداضملاً ماسجلاً مادختسلال زهاج

p53 (DO-7)

رقم الدليل: PA0057

## الاستعمال المستهدف

هذا الكاشف مخصص للاستعمال في أغراض التشخيص في المختبرات.

إن الغرض من الجسم المضاد أحادي النسيلة p53 (DO-7) هو استخدامه في التحديد النوعي بواسطة المجهر الضوئي لبروتين p53 البشري في النسيج المثبت بالفورمالين، والمضمن في البياض عن طريق التلطيح الكيميائي النسيجي المناعي باستخدام نظام BOND الألي. (يشمل نظامي Leica BOND-MAX و Leica BOND-III). ينبغي أن يُستكمل التفسير السريري لوجود أي تلوّخ أو غيابه من خلال الدراسات المورفولوجية والخواص الصحيحة، وينبغي تقييم ذلك في سياق التاريخ السريري للمريض وغيره من الاختبارات التشخيصية التي يُجرىها أخصائي مؤهل في علم الأمراض.

## الملخص والشرح

يمكن استخدام الأساليب الكيميائية النسيجية المناعية لإثبات وجود مستضدات في النسيج والخلايا (انظر "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك). الجسم المضاد الأولي P53 (DO-7) عبارة عن منتج جاهز للاستعمال تم تحسينه تحديداً من أجل استخدامه مع نظام BOND Polymer Refine Detection. يتحقق إظهار بروتين p53 البشري من خلال السماح أولاً بربط p53 (DO-7) بالقطع، ثم تصوير هذا الربط باستخدام الكواشف المتوفرة في نظام الكشف. يقلل استخدام هذه المنتجات، جنباً إلى جنب مع نظام BOND الألي، من إمكانية حدوث خطأ بشري وتغييرات متعاقبة ناتجة عن تخفيف الكاشف الفردي، والمصن البشري، والاستعمال الكاشف.

## الكواشف المتوفرة

يعتبر p53 (DO-7) جسماً مضافاً مضاداً بشرياً أحادي النسيلة لدى الفران يتم إنتاجه كمادة طافية لزراعة الأنسجة، ويتم توفيره في محلول ملحي ثلاثي منظم مع بروتين حامل، ويحتوي على 0.35% من ProClim™ 950 كمادة طافية.

الحجم الكلي = 7 مل.

## المستسخ

DO-7

## المستضد

بروتين p53 المشابو البشري بري النمط.

## الخصوصية

بروتين p53 البشري بري النمط والأشكال الطافرة تحت الظروف المخالفة للطبيعة وتلك غير المخالفة للطبيعة.

## الفئة الفرعية

IgG2b.

## تركيز البروتين الكلي

نحو 10 مجم/مل تقريباً

## تركيز الجسم المضاد

أكبر من أو يساوي 0.06 مجم/لتر حسبما تحدد مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA).

## التخفيف والخلط

يتم تخفيف الجسم المضاد الأولي (DO-7) p53 للحد الأمثل لاستخدامه في نظام BOND. لا يلزم إعادة تشكيل هذا الكاشف، أو خلطه، أو تخفيفه، أو معايرته.

## المواد المطلوبة لكنها غير متوفرة

ارجع إلى "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك للحصول على قائمة كاملة بالمواد المطلوبة لمعالجة العينات والتلطيح الكيميائي النسيجي المناعي باستخدام نظام BOND.

## التخزين والاستقرار

يُخزن في درجة حرارة 8°-2 درجة مئوية. لا يُستعمل بعد تاريخ الانتهاء المتون على ملصق الحاوية.

تتمثل العلامات التي تشير إلى تلوّخ (DO-7) p53 وأو عدم استقراره في: تعكر المحلول، وانبعثات رائحة، ووجود راسب.

أعد درجة الحرارة إلى 8°-2 درجة مئوية بعد الاستعمال مباشرة.

يجب التحقق من ظروف التخزين بمعرفة المستخدم بخلاف الظروف المحددة أعلاه.

## الاحتياطات

- هذا المنتج مخصص للاستعمال في أغراض التشخيص في المختبرات.
- تركيز ProClim™ 950 هو 0.35%. وهو يحتوي على العنصر النشط 2-ميثيل-4-أيزوثيازولين-3-واحد، وقد يسبب تهيجاً في الجلد، والعينين، والأغشية المخاطية، والجهاز التنفسي العلوي. عليك بارتداء قفاز للاستعمال مرة واحدة عند التعامل مع الكواشف.
- للحصول على نسخة من صحيفة بيانات سلامة المواد، اتصل بالموزع المحلي لديك أو مكتب Leica Biosystems الإقليمي، أو يمكنك بدلاً من ذلك زيارة موقع Leica Biosystems على شبكة الويب على العنوان الإلكتروني [www.LeicaBiosystems.com](http://www.LeicaBiosystems.com).
- ينبغي التعامل مع العينات، قبل التثبيت وبعده، وكذلك مع جميع المواد التي تتعرض لها كما لو كانت قادرة على نقل العدوى، وينبغي التخلص منها مع اتخاذ الاحتياطات السليمة. لا تصنع الكواشف معطّلاً عن طريق الفم، وتجنب احتكاك الجلد والأغشية المخاطية بالكواشف أو العينات. إذا كانت الكواشف أو العينات تحتك بمناطق حساسة، فعليك بغسل هذه المناطق بكميات وفيرة من الماء. اطلب المشورة الطبية.
- راجع اللوائح الفيدرالية، أو لوائح الولاية، أو اللوائح المحلية للتخلص من أي مكونات سامة محتملة.
- قلّل التلوّخ الميكروبي للكواشف وإلا قد تحدث زيادة في التلوّخ غير المحدد.
- قد تؤدي ظروف الاسترجاع، أو أوقات الضمالة، أو درجات الحرارة بخلاف تلك الظروف المحددة إلى الحصول على نتائج خاطئة. يجب التحقق من أي تغيير كهذا من جانب المستخدم.

## تعليمات الاستخدام

تم تطوير الجسم المضاد الأولي p53 (DO-7) لاستخدامه في نظام BOND الآلي بالاقتران مع نظام BOND Polymer Refine Detection. يتمثل بروتوكول التلطيخ الموصى به للجسم المضاد الأولي p53 (DO-7) في IHC Protocol F. ويوصى باسترجاع الحائمة المتأثر بالحرارة باستخدام محلول استرجاع BOND Epitope Retrieval Solution لمدة 20 دقيقة.

## النتائج المتوقعة

### الأنسجة العادية

بسبب انخفاض مستويات البروتين p53 في الأنسجة العادية، فإن التلطيخ بـ p53 (DO-7) يعد ضعيفًا في نواة الخلايا الليفية المخاطية والمجاميع اللمفاوية في الأمعاء، والخلايا الظهارية القاعدية بعقب الرحم واللوزتين، والمراكز الجرثومية باللوزتين، والخلايا الكيراتينية بالبرشرة، والبنبيات الناقلة للحمى بالخصية، وفي الغدة النخامية، والغدة الكظرية. (إجمالي عدد الحالات العادية للملحة = 84).

### الأنسجة الورمية

مستسخ DO-7 تلخ 56/86 من الأورام التي تم تقييمها، وتشمل أورام الثدي (28/41)، ومنها 26/38 من السرطان القوي، و1/1 من الأورام ورقية الشكل، و1/1 من الأورام الكيسية ورقية الشكل، و0/1 من السرطان المخاعي غير النطعي، وأورام المبيض (4/5)، ومنها 2/2 من السرطان المصلي، و1/1 من السرطان المويضي، و1/1 من سرطان الخلايا الصافية، و0/1 من سرطان الخلايا الجرثومية، وأورام الرئة (3/4)، ومنها 2/3 من سرطان الخلايا غير الصغيرة، و1/1 من سرطان الخلايا الحشرية، وسرطان الغدة الرقية الحليمي (2/4)، وأورام الكبد (2/4)، وسرطان الخلايا الحشرية باللسان (2/2)، والأورام الثقيلة من أصل غير معروف (2/2)، وسرطان القولون الغدي (3/3)، وسرطان المستقيم الغدي (2/2)، وأورام المخ (1/2)، وسرطان الخلايا الحشرية بالمريء (1/2)، وسرطان المعدة الغدي (1/2)، وأورام الأنسجة الرخوة (1/2)، وسرطان الخلايا الكلوية (1/2)، وسرطان الخلايا الحشرية بعقب الرحم (1/2)، وأورام الجلد (1/2)، وسرطان بطانة الرحم (1/1)، والأورام المنوية الخصوية (0/2)، وسرطان الخلايا الحشرية بالحنجرة (0/1)، والأورام السرطانية غير التملطية بالغدة المستعترية (0/1). (إجمالي عدد الحالات الورمية التي تم تقييمها = 86).

**يوصى باستخدام p53 (DO-7) للكشف عن بروتين p53 البشري في الأنسجة العادية والورمية. كعامل مساعد لعلم أمراض الأنسجة التقليدي باستخدام تلطيخ منسجي كيميائي غير مناعي.**

## القيود الخاصة بالمنسج

تم تحسين p53 (DO-7) في Leica Biosystems لاستخدامه مع نظام BOND Polymer Refine Detection وكواشف BOND المساعدة. على المستخدمين الذين يحددون عن إجراءات الاختبار المسؤولية بما قبل تحمل المسؤولية عن تفسير نتائج المرضى في ظل هذه الظروف. قد يختلف عدد مرات البروتوكول، بسبب الاختلاف في تثبيت الأنسجة وفعالية تعزيز المنسج، وذلك يجب تحديده تجريبيًا. ينبغي استعمال ضوابط الكواشف السلبية عند تحسين ظروف الاسترجاع وعدد مرات البروتوكول.

## اكتشاف المشكلات وحلها

ارجع إلى المرجع رقم 3 للاطلاع على الإجراء العلاجي.

اتصل بالموزع المحلي لديك أو بـ Leica Biosystems الإقليمي للإبلاغ عن أي تلطيخ غير اعتيادي.

## المزيد من المعلومات

يمكن العثور على المزيد من المعلومات حول التلطيخ المناعي باستخدام كواشف BOND، تحت العناوين التالية: مبدأ الإجراء، المواد المطلوبة، إعداد العينة، ضبط الجودة، التحقق من صحة الفحص، تفسير التلطيخ، مفتاح الرموز المدونة على الملصقات، والقيود العامة، وذلك في قسم "استعمال كواشف BOND" في وثائق مستخدم BOND التي بحوزتك.

## قائمة المراجع

1. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988, Final Rule 57 FR 7163 February 28, 1992.
2. Villanova PA. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. 1991; 7(9). Order code M29-P.
3. Bancroft JD and Stevens A. Theory and Practice of Histological Techniques. 4th Edition. Churchill Livingstone, New York. 1996.
4. Tiniakos DG, Robinson KB, Greenwood H et al. c-erbB-2 and p53 expression in breast cancer fine needle aspirates. Cytopathology. 1996; 7(3): 178-186.
5. Home GM, Anderson JJ, Tiniakos DG et al. p53 protein as a prognostic indicator in breast carcinoma: a comparison of four antibodies for immunohistochemistry. British Journal of Cancer. 1996; 73(1): 29-35.
6. Yoshida T, Mikami T, Mitomi H et al. Diverse p53 alterations in ulcerative colitis-associated low-grade dysplasia: full-length gene sequencing in microdissected single crypts. Journal of Pathology. 2003; 199(2):166-175.
7. Burns ASYW, Jaros E, Cole M et al. The molecular pathology of p53 in primitive neuroectodermal tumours of the central nervous system. British Journal of Cancer. 2002; 86(7):1117-1123.
8. Lam KY, Lo CY, Wat NMS et al. The clinicopathological features and importance of p53, Rb, and mdm2 expression in pheochromocytomas and paragangliomas. Journal of Clinical Pathology. 2001; 54:443-448.
9. Tweddle DA, Malcolm AJ, Cole M et al. p53 cellular localisation and function in neuroblastoma. American Journal of Pathology. 2001; 158(6): 2067-2077.
10. Fernando SS, Wu X and Perera LS. p53 overexpression and steroid hormone receptor status in endometrial carcinoma. International Journal of Surgical Pathology. 2000; 8(3):213-222.
11. Moreno Sierra J, Lopez Garcia Asenjo JA, Redondo Gonzalez E et al. Usefulness of p53 oncoprotein immunohistochemistry in the follow-up of bladder carcinoma: a 5-year study. Archivos Espanoles de Urologia. 1999; 52(8):840-848.
12. Kushner J, Bradley G and Jordan RCK. Patterns of p53 and Ki-67 protein expression in epithelial dysplasia from the floor of the mouth. Journal of Pathology. 1997; 183:418-423.
13. Brotherick I, Shenton BK, Cowan WK et al. p53 expression measured by flow cytometry. A comparison of three monoclonal antibodies and the relationship with grade and DNA ploidy in breast cancer. Cancer Immunology, Immunotherapy. 1995; 41(3):146-150.
14. Chen Y-H, Li C-D, Yap EPH et al. Detection of loss of heterozygosity of p53 gene in paraffin-embedded breast cancers by non-isotopic PCRSSCP. Journal of Pathology. 1995; 177:129-134.
15. Piffko J, Bankfalvi A, Öfner D et al. Immunohistochemical detection of p53 protein in archival tissues from squamous cell carcinomas of the oral cavity using wet autoclave antigen retrieval. Journal of Pathology. 1995; 176:69-75.
16. Baas IO, Mulder J-WR, Offerhaus GJA et al. An evaluation of six antibodies for immunohistochemistry of mutant p53 gene product in archival colorectal neoplasms. Journal of Pathology. 1994; 172:5-12.
17. Lambkin HA, Mothersill CM and Kelehan P. Variations in immunohistochemical detection of p53 protein overexpression in cervical carcinomas with different antibodies and methods of detection. Journal of Pathology. 1994; 172:13-18.



18. Symmans PJ, Linehan JM, Brito MJ et al. p53 expression in Barrett's oesophagus, dysplasia, and adenocarcinoma using antibody DO-7. *Journal of Pathology*. 1994; 173:221–226.
19. Vojtešek B, Bártek J, Midgley CA et al. An immunohistochemical analysis of human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. *Journal of Immunological Methods*. 1992; 151:237–244.

تاریخ الإصدار  
03 أكتوبر 2018



Leica Biosystems Newcastle Ltd  
Balliol Business Park  
Benton Lane  
Newcastle Upon Tyne NE12 8EW  
United Kingdom  
☎ +44 191 215 4242



Leica Biosystems Canada  
71 Four Valley Drive  
Concord, Ontario L4K 4V8  
Canada  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Inc  
1700 Leider Lane  
Buffalo Grove IL 60089  
USA  
☎ +1 800 248 0123

Leica Biosystems Melbourne  
Pty Ltd  
495 Blackburn Road  
Mt Waverley VIC 3149  
Australia  
☎ +61 2 8870 3500