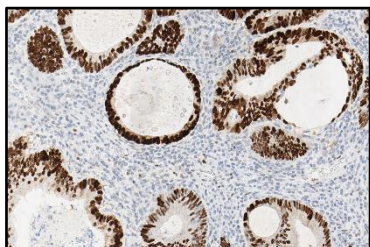


## Anti-p53 (Bp53-11) Primary Antibody

**REF** 760-2542

05267102001

**IVD**  50



**Obr. 1. Barvení adenokarcinomu tlustého střeva pomocí protilátky Anti-p53 (Bp53-11).**

Tato protilátka je určena pro diagnostické použití in vitro (IVD).

### SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Protilátka Anti-p53 (Bp53-11) Primary Antibody (protilátka Anti-p53 (Bp53-11)) rozpoznává nádorový protein p53 (TP53), známý také jako p53. Protein p53 je 43.7kDa protein vázající DNA složený z 393 aminokyselin. Skládá se ze šesti domén: transkripční aktivační domény I (TAD I), transkripční aktivační domény II (TAD II), oblasti bohaté na prolin (PRD), centrální jadrové domény, která zahrnuje doménu vázající DNA (DBD), tetramerizační doménu (TD) a základní doménu (BD) s C koncem.<sup>1</sup> p53 o celé délce může prostřednictvím TD reverzibilně vytvářet tetramery.<sup>2</sup> Tvorba tetrameru p53 je nezbytná pro místně specifickou vazbu DNA, posttranslační modifikace a interakce protein–protein.<sup>2</sup>

Protein p53 hraje ústřední roli při udržování genomové integrity zastavením buněčného cyklu při genomovém stresu a zabráněním proliferace buněk s poškozenou DNA.<sup>2,3,4,5</sup> Protein p53 je v nestimulovaných buňkách udržován na velmi nízkých úrovních, avšak v reakci na různé podněty, jako je poškození DNA, nutriční deprivace, vyčerpání ribonukleotidů, hypoxie, oxidační stres a hyperproliferativní signály, se p53 stabilizuje a začne se v buňkách hromadit.<sup>3</sup> Jakmile je p53 aktivován, zprostředkovává změny v genové expresi a podporuje zastavení buněčného cyklu, apoptózu a opravu DNA.<sup>3,6</sup> Inaktivace p53 proto může vést k proliferaci a transformaci ohrožených buněk.<sup>5</sup>

Detekce proteinu divokého typu a mutančního proteinu p53 pomocí imunohistochemie (IHC) pomocí protilátky Anti-p53 (Bp53-11) může být použita k poskytnutí doplňkových informací týkajících se akumulace p53, která je spojena s dysregulací buněčného cyklu a ztrátou suprese tumoru. Může být použita jako součást panelu studií IHC. Vzor barvení je jaderný.

### PRINCIP POSTUPU

Protilátka Anti-p53 (Bp53-11) je myší monoklonální protilátka namířená proti proteinu p53. Protilátka Anti-p53 (Bp53-11) se váže na protein p53 v tkáňových řezech fixovaných formalínem, zalitých parafinem (FFPE). Tuto protilátku je možné zobrazit pomocí detekční soupravy *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500 / 05269806001) nebo *OptiView* DAB IHC Detection Kit (kat. č. 760-700 / 06396500001) na přístroji BenchMark IHC/ISH. Další údaje naleznete v příslušném metodickém listu.

### DODÁVANÝ MATERIÁL

Protilátka Anti-p53 (Bp53-11) obsahuje dostatek reagentie pro 50 testů.

Jeden 5mL dávkovač protilátky Anti-p53 (Bp53-11) obsahuje přibližně 12.5 µg myší monoklonální protilátky namířené proti epitopu přítomnému na lidském proteinu p53.

Protilátka je naředěna ve fyziologickém roztoku s fosforečnanovým pufrům, obsahujícím nosičový protein a konzervační prostředek.

Koncentrace specifické protilátky je přibližně 2.5 µg/mL. Pro tento produkt není známa žádná nespecifická reaktivita protilátky.

Protilátka Anti-p53 (Bp53-11) je myší monoklonální protilátka vyráběná jako purifikovaný supernatant buněčné kultury.

Podrobné popisy následujících položek naleznete v příslušném metodickém listu v detekční soupravě VENTANA: Princip postupu, Materiál a metody, Odběr vzorků a příprava pro analýzu, Postupy kontroly kvality, Řešení problémů, Interpretace výsledků a Obecná omezení.

### POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Barvicí reagentie, například detekční soupravy VENTANA, a pomocné materiály, včetně sklíček pro negativní a pozitivní kontrolu tkáně, nejsou součástí dodávky.

Všechny produkty uvedené v metodickém listu nemusejí být dostupné ve všech zeměpisných oblastech. Obráťte se na místní servisní zastoupení.

Následující reagentie a materiály mohou být při barvení potřebné, nejsou však součástí dodávky:

1. Doporučené kontrolní tkáň
2. Mikroskopická sklíčka, pozitivně nabitá
3. Negative Control (Monoclonal) (kat. č. 760-2014 / 05266670001)
4. *OptiView* DAB IHC Detection Kit (kat. č. 760-700 / 06396500001)
5. *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500 / 05269806001)
6. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. č. 950-102 / 05279771001)
7. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. č. 950-300 / 05353955001)
8. LCS (Predilute) (kat. č. 650-010 / 05264839001)
9. ULTRA LCS (Predilute) (kat. č. 650-210 / 05424534001)
10. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. č. 950-124 / 05279801001)
11. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. č. 950-224 / 05424569001)
12. Hematoxylin II (kat. č. 760-2208 / 05277965001)
13. Bluing Reagent (kat. č. 760-2037 / 05266769001)
14. Obecné laboratorní vybavení
15. Přístroj BenchMark IHC/ISH

### SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Po přijetí a mezi použitím uchovávejte při teplotě 2–8 °C. Nezmrazujte.

Aby byla zajištěna správná funkčnost reagentie a stabilita protilátky, musí se dávkovač po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve vstříkací poloze do chladničky.

Každý dávkovač protilátky má stanovenou dobu expirace. Při řádném skladování zůstane reagentie stabilní do data uvedeného na štítku. Po uplynutí data expirace reagentie nepoužívejte.

### PŘÍPRAVA VZORKŮ

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami VENTANA a přístroji BenchMark IHC/ISH jsou vhodné tkáň FFPE zpracované běžným způsobem. Doporučeným fixativem na tkáň je 10% neutrální pufovaný formalin.<sup>7</sup> Sklíčka je třeba neprodleně obarvit, neboť antigenost tkáňových řezů se může s postupem času snižovat. Mohou se vyskytnout rozdílné výsledky jako důsledek prodloužené fixace nebo speciálních procesů, například odvápnování preparátů kostní dřevě.

Vyšetření neznámých vzorků doporučujeme provádět souběžně s pozitivními a negativními kontrolními vzorky.


### UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

1. Určeno k diagnostickému použití in vitro (IVD).
2. Pouze k odbornému použití.
3. **UPOZORNĚNÍ:** Federální zákony USA omezují prodej tohoto prostředku pouze lékařům nebo na jejich objednávku. (Rx Only)
4. Nepoužívejte nad rámec specifikovaného počtu testů.
5. Roztok ProClin 300 se používá v této reagentii jako konzervační prostředek. Je klasifikován jako dráždivý a při styku s kůží může způsobit senzibilizaci. Při manipulaci dodržujte příslušná bezpečnostní opatření. Zamezte kontaktu reagentie s očima, kůží a sliznicemi. Používejte vhodný ochranný oděv a rukavice.
6. Pozitivně nabitá sklíčka mohou být citlivá na zátěž prostředí, což má za následek nevhodné zbarvení. Požádejte zástupce společnosti Roche o další informace o tom, jak používat tyto typy sklíček.
7. S materiálem lidského nebo živočišného původu je třeba nakládat jako s nebezpečným biologickým materiálem a likvidovat jej v souladu s platnými bezpečnostními opatřeními. V případě expozice je potřeba se řídit zdravotnickými směrnici odpovědných orgánů.<sup>8,9</sup>

8. Zabraňte kontaktu reagensů s očima a sliznicemi. Jestliže se reagenty dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.
9. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagensů, mohla by způsobit nepřesnost výsledků.
10. Další informace o používání tohoto prostředku obsahuje uživatelská příručka přístroje BenchMark IHC/ISH a návody k použití všech nezbytných součástí, které naleznete na internetových stránkách [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com).
11. Doporučené metody likvidace naleznete v celostátních a/nebo místních předpisech.
12. Označení produktu bezpečnostními štítky se řídí hlavně pokyny GHS EU. Pro profesionální uživatele je na vyžádání k dispozici bezpečnostní list.
13. Pro nahlášení podezřelých závažných incidentů týkajících se tohoto prostředku se obraťte na místního zástupce společnosti Roche a kompetentní orgány členského státu nebo země, ve které uživatel provozuje činnost.

Tento produkt obsahuje součásti klasifikované následovně podle směrnice (ES) č. 1272/2008:

Tab. 1. Informace o rizicích.

Riziko	Kód	Věta
	H317	Může vyvolat alergickou kožní reakci.
	P261	Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů.
	P272	Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště.
	P280	Používejte ochranné rukavice.
	P333 + P313	Při podráždění kůže nebo výrazce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
	P362 + P364	Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím ho vyperte.
	P501	Zlikvidujte obsah/obal předáním do schváleného zařízení k likvidaci odpadu.

Tento produkt obsahuje látku s č. CAS 55965-84-9, směs: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3 : 1).

## POSTUP BARVENÍ

Primární protilátky VENTANA byly vyvinuty pro použití v přístrojích BenchMark IHC/ISH společně s detekčními soupravami a příslušenstvím VENTANA. Doporučené barvicí protokoly uvádějí tabulky.

Tato protilátka byla optimalizována pro specifické inkubační doby, uživatel však musí výsledky získané pomocí této reagentie ověřit

Parametry automatických procesů lze zobrazit, vytisknout a upravovat podle postupů uvedených v uživatelské příručce přístroje. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v metodickém listu k příslušné detekční soupravě VENTANA.

Další podrobnosti o správném používání tohoto prostředku najdete v metodickém listu ke vkladacímu dávkovači (P/N 760-2542).

Tab. 2. Doporučený barvicí protokol pro protilátku Anti-p53 (Bp53-11) s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit na přístrojích BenchMark IHC/ISH.

Typ postupu	Metoda		
	GX	XT	ULTRA
Odparafinování	Zvoleno	Zvoleno	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	CC1, mírné	CC1, mírné	ULTRA CC1, 36 minut (mírné), 95 °C
Protilátka (primární)	24 minut, 37 °C	24 minut, 37 °C	32 minut, 36 °C
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty		
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty		

Tab. 3. Doporučený barvicí protokol pro protilátku Anti-p53 (Bp53-11) s detekční soupravou *OptiView* DAB IHC Detection Kit na přístrojích BenchMark IHC/ISH.

Typ postupu	Metoda		
	GX	XT	ULTRA
Odparafinování	Zvoleno	Zvoleno	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	CC1, 32 minut, 100 °C	CC1, 32 minut, 100 °C	ULTRA CC1, 32 minut, 100 °C
Protilátka (primární)	12 minut, 37 °C	16 minut, 37 °C	12 minut, 36 °C
Preprimární inhibitor peroxidázy	Zvoleno		
OptiView HQ Linker	8 minut (standardně)		
OptiView HRP Multimer	8 minut (standardně)		
Kontrastní barvivo	Hematoxylin II, 4 minuty		
Po kontrastním barvení	Bluing, 4 minuty		

Vzhledem k různým způsobům fixace a zpracování tkání, jakož i obecnému stavu přístroje a podmínkám laboratorního prostředí může být potřeba prodloužit nebo zkrátit dobu inkubace s primární protilátkou, dobu úpravy buněk nebo dobu předběžného zpracování proteázou v závislosti na jednotlivých vzorcích, použité metodě detekce a vlastní preferenci. Další informace o různých fixacích naleznete v příručce „Immunohistochemistry Principles and Advances“ (Zásady a postupy imunohistochemie).<sup>10</sup>

## NEGATIVNÍ REAGENČNÍ KONTROLA

Kromě obarvení protilátkou Anti-p53 (Bp53-11) by mělo být provedeno obarvení druhého sklíčka s odpovídající reagentií negativní kontroly.

## POZITIVNÍ KONTROLA TKÁNĚ

S každým provedeným postupem barvení musí být provedena pozitivní kontrola tkáně. Nejvhodnějším laboratorním postupem je uložit řez pro pozitivní kontrolu na stejné sklíčko jako testovanou tkáň. Při nanášení reagentie na sklíčko pak lze snáze zjistit případné závady. Pro kontrolu kvality je nejvhodnější tkáň se slabým pozitivním zbarvením. Kontrolní tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené buňky a sloužit pro pozitivní i negativní kontrolu. Kontrolní tkáň by měl být čerstvý vzorek z pitvy, biopsie nebo operace, zpracovaný nebo fixovaný co nejdříve stejným způsobem jako testované řezy.

Známé pozitivní kontroly tkání je nutno používat pouze ke sledování správné funkce reagentií a přístrojů, nikoli jako pomůcku ke stanovení konkrétní diagnózy testovaných vzorků. Pokud pozitivní kontroly tkání pozitivní zbarvení nevykazují, je třeba považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Příkladem tkáně pro pozitivní kontrolu pro tuto protilátku je adenokarcinom tlustého střeva, který by měl vykazovat jaderné barvení u většiny neoplastických buněk.

## INTERPRETACE BARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Buněčný vzor barvení u protilátky Anti-p53 (Bp53-11) je jaderný.

## SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Systém detekce *OptiView* detection je obecně citlivější než detekční souprava *ultraView* Universal DAB detection kit. Uživatel však musí výsledky získané pomocí této reagentie a detekčních systémů ověřit.

Všechny testy nemusí být registrovány na každém přístroji. Pro více informací kontaktujte místního zástupce společnosti Roche.

## FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

### ANALYTICKÁ VÝKONNOST

Niže jsou uvedeny výsledky provedených testů barvení týkajících se senzitivity, specifity a preciznosti.

**Senzitivita a specificita**
**Tab. 4.** Senzitivita/specificita protilátky Anti-p53 (Bp53-11) byla stanovena testováním běžných tkání FFPE.

Tkáň	Počet pozitivních případů/celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů/celkový počet případů
Velký mozek	0/3	Tenké střevo	3/3
Mozeček	3/3	Tlusté střevo <sup>b</sup>	5/6
Nadledvinka	2/3	Apendix	1/2
Vaječník	3/5	Játra	0/5
Slinivka	5/5	Slinná žláza	3/3
Lymfatická uzlina	2/2	Hltan, dutina ústní	2/3
Hypofýza	2/3	Ledvina	3/3
Varle	3/3	Prostata	3/3
Štítná žláza	3/3	Močový měchýř	3/4
Prs <sup>a</sup>	6/8	Příštitné tělísko	3/3
Slezina	0/3	Endometrium	3/3
Mandle	5/5	Děložní hrdlo	3/3
Brzlík	3/3	Kosterní sval	0/3
Kostní dřev	0/3	Kůže	3/3
Plíce	1/3	Nerv	0/3
Srdce	0/3	Mezotel	3/3
Jícen	3/3	Měkká tkáň	0/3
Žaludek	3/3		

<sup>a</sup> Hodnocené tkáně zahrnovaly běžný prs a prs s fibrocystickými změnami.

<sup>b</sup> Hodnocené tkáně zahrnovaly běžné tlusté střevo a vrozený megakolon.

**Tab. 5.** Senzitivita/specificita protilátky Anti-p53 (Bp53-11) byla stanovena testováním řady neoplastických tkání FFPE.

Patologie	Počet pozitivních případů/celkový počet případů
Glioblastom (mozek)	1/1
Meningiom (mozek)	1/1
Ependymom (mozek)	1/1
Oligodendrogliom (mozeček)	1/1
Adenokarcinom (hlava a krk)	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (hlava a krk)	1/1
Serózní adenokarcinom (vaječník)	32/49
Mucinózní adenokarcinom (vaječník)	11/17
Nádor z granulóznych buněk (vaječník)	1/1
Teratom (vaječník)	1/1
Serózní cystadenom (vaječník)	1/1
Mucinózní cystadenom (vaječník)	1/1
Hraniční smíšený cystadenom (vaječník)	1/1
Endometrioidní karcinom (vaječník)	24/28

Patologie	Počet pozitivních případů/celkový počet případů
Karcinom z jasných buněk (vaječník)	2/2
Neuroendokrinní novotvar (slinivka)	1/1
Adenokarcinom (slinivka)	1/1
Seminom (varle)	1/1
Embryonální karcinom (varle)	1/1
Papilární karcinom (štítná žláza)	1/1
Folikulární karcinom (štítná žláza)	1/1
Duktální karcinom in situ (prs)	5/8
Invazivní duktální karcinom (prs)	60/79
Invazivní lobulární karcinom (prs)	5/11
Mucinózní adenokarcinom (prs)	1/1
Adrenální kortikální adenom (nadledvinka)	1/1
Fenochromcytom (nadledvinka)	1/1
Malobuněčný karcinom (plíce)	1/1
Adenokarcinom (plíce)	1/1
Pleomorfni adenom (slinná žláza)	1/1
Warthinův nádor (slinná žláza)	1/1
Adenokarcinom (jícen)	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (jícen)	1/1
Adenokarcinom (žaludek)	1/1
Gastrointestinální stromální tumor (GIST) (žaludek)	1/1
Adenokarcinom (tenké střevo)	0/1
GIST (tenké střevo)	1/1
Adenokarcinom (tlusté střevo)	71/83
Adenoskvamózní karcinom (tlusté střevo)	1/1
Mucinózní adenokarcinom (tlusté střevo)	8/8
Papilární adenokarcinom (tlusté střevo)	3/3
Adenom, NOS (tlusté střevo)	1/1
Tubulární adenom (tlusté střevo)	0/1
Dobře diferencovaný neuroendokrinní tumor (apendix)	1/1
Hepatocelulární karcinom (játra)	0/1
Cholangiokarcinom (játra)	1/1
Papilární adenom (ledvina)	1/1
Adenokarcinom (prostata)	2/2
Karcinom z jasných buněk (děloha)	1/1
Endometrioidní karcinom (děloha)	1/1
Leiomyom (děloha)	0/1
Leiomyosarkom (děloha)	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (čipek)	1/1
Adenokarcinom (endocervix)	1/1
Alveolární rabdomyosarkom (sval)	1/1
Myxom (sval)	1/1

Patologie	Počet pozitivních případů/celkový počet případů
Karcinom z bazálních buněk (kůže)	1/1
Melanom (kůže)	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (kůže)	1/1
Maligní nádor periferního nervového obalu (periferní nerv)	1/1
Schwannom (periferní nerv)	1/1
Anaplastický velkobuněčný lymfom (lymfatická uzlina)	1/1
Hodgkinův lymfom (lymfatická uzlina)	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (močový měchýř)	1/1
Plazmocytom (extramedulární)	1/1
Mezoteliom (mezotel)	1/1
Solitární fibrózní nádor (pohrudnice)	1/1
Angiosarkom (měkká tkáň)	1/1
Liposarkom (měkká tkáň)	1/1

### Preciznost

Studie preciznosti pro protilátku Anti-p53 (Bp53-11) byly provedeny za účelem prokázání:

- Preciznosti výsledků protilátky mezi šaržemi.
- Preciznosti během jednoho cyklu a mezi dny na přístroji BenchMark ULTRA.
- Preciznosti mezi přístroji na přístrojích BenchMark GX, BenchMark XT a BenchMark ULTRA .
- Preciznosti mezi platformami mezi přístroji BenchMark XT, BenchMark GX a BenchMark ULTRA .

Všechny studie splnily kritéria přijatelnosti.

### LITERATURA

1. Kim S, An SS. Role of P53 Isoforms and Aggregations in Cancer. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(26):e3993.
2. Kamada R, Toguchi Y, Nomura T, et al. Tetramer Formation of Tumor Suppressor Protein P53: Structure, Function, and Applications. *Biopolymers*. 2016;106(4):598-612.
3. Vieler M, Sanyal S. P53 Isoforms and Their Implications in Cancer. *Cancers (Basel)*. 2018;10(9).
4. Harris SL, Levine AJ. The P53 Pathway: Positive and Negative Feedback Loops. *Oncogene*. 2005;24(17):2899-2908.
5. Powell DJ, Hrstka R, Candeias M, et al. Stress-Dependent Changes in the Properties of P53 Complexes by the Alternative Translation Product P53/47. *Cell Cycle*. 2008;7(7):950-959.
6. Goh AM, Coffill CR, Lane DP. The Role of Mutant P53 in Human Cancer. *J Pathol*. 2011;223(2):116-126.
7. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
8. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
9. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.
10. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. (NR Rose Ed.) ASM Press, 2002.

**POZNÁMKA:** V tomto dokumentu se jako symbol pro oddělování celého čísla a desetinných míst používá vždy tečka. Oddělovače pro tisíce se nepoužívají.

Souhrn bezpečnosti a funkčnosti naleznete zde:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>

### Symboly

Společnost Ventana používá následující symboly a znaky nad rámec uvedený v normě ISO 15223-1 (pro USA: definici použitých symbolů naleznete na internetových stránkách [dialog.roche.com](http://dialog.roche.com)):



Číslo položky Global Trade

### DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

VENTANA, BENCHMARK, OPTIVIEW, *ultraView* a logo VENTANA jsou ochranné známky společnosti Roche. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

Přidání, odstranění nebo změny jsou označeny pruhem změn na okraji.

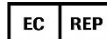
© 2020 Ventana Medical Systems, Inc.

### KONTAKTNÍ INFORMACE



Ventana Medical Systems, Inc.  
1910 E. Innovation Park Drive  
Tucson, Arizona 85755  
USA  
+1 520 887 2155  
+1 800 227 2155 (USA)

[www.roche.com](http://www.roche.com)



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
D-68305 Mannheim  
Germany  
+800 5505 6606

