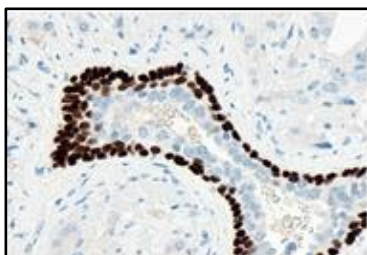


VENTANA anti-p63 (4A4) Mouse Monoclonal Primary Antibody

REF 790-4509

05867061001

IVD Σ 50



Obrázek 1. Protilátka VENTANA anti-p63 (4A4) pro barvení normálních bazálních buněk v tkáni prostaty.

relevantními klinickými informacemi a správnými kontrolami.

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

SOUHRN A VYSVĚTLENÍ

Protilátka VENTANA anti-p63 (4A4) Mouse Monoclonal Primary Antibody (protilátka VENTANA anti-p63 (4A4)) je myší monoklonální protilátka produkovaná proti proteinu p63. Lidský nádorový protein 63 (TP63, p63) je 77 kDa protein lokalizovaný v buněčném jádru a člen rodiny p53 transkripčních faktorů.¹ Protein p63 je exprimován v bazálních nebo progenitorových buňkách epitelálních tkání a glandulárních struktur, včetně prostaty, prsu a průdušek.^{2,3,4} V prostatě je p63 exprimován v bazálních buňkách téměř všech normálních a benigních žláz, ale není přítomen v neuroendokrinních nebo lumenálních sekrečních buňkách.⁵ V prsu je p63 exprimován ve vrstvě bazálních myoepitelálních buněk (MEC) v normální tkáni i v benigních lézích.⁴ Invazivní léze, které se vyvíjejí z prostaty nebo prsu a zahrnují je, mohou narušit a nakonec i porušit bazální membránu, čímž eliminují přítomnost bazálních buněk prostaty nebo buněk MEC prsu.^{4,6}

Imunohistochemická (IHC) detekce p63 v bazálních buňkách prostaty je znakem normálních a benigních procesů a nepřítomnost p63 svědčí o karcinomu prostaty.⁶ Detekce p63 v bazálních buňkách prostaty s využitím protilátky VENTANA anti-p63 (4A4) může být použita jako pomůcka při diferenciaci benigních a maligních lézí prostaty. Detekce p63 v buňkách MEC prsu je charakteristickým znakem neinvazivních procesů a absence p63 naznačuje invazivní novotvary.^{7,8} Detekce p63 v buňkách MEC prsu s využitím protilátky VENTANA anti-p63 (4A4) může být použita k odlišení invazivních a neinvazivních novotvarů v prsu.

V plicích je p63 exprimován v kompartmentu bazálních buněk.³ Předpokládá se, že karcinom ze skvamózních buněk (SCCA) v plicích pochází z bazálního kompartmentu.⁹ Nadměrná exprese p63 u nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) tedy může být indikátorem maligní skvamózní diferenciaci.^{10,11,12} Detekce p63 s využitím protilátky VENTANA anti-p63 (4A4) může být použita jako marker skvamózní diferenciaci na podporu rozlišení mezi plicním SCCA a plicním adenokarcinomem (ADC).

Tato protilátka může být použita jako součást panelu studií IHC.

PRINCIP POSTUPU

VENTANA anti-p63 (4A4) je myší monoklonální protilátka produkovaná proti rekombinantnímu fragmentu N-terminální sekvence lidského proteinu p63. Protilátka VENTANA anti-p63 (4A4) se váže na protein p63 ve tkáňových řezech fixovaných ve formalínu a zalitých v parafínu (FFPE) a vykazuje nukleární charakteristiku barvení. Tuto protilátku je možné zobrazit pomocí detekční soupravy *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500 / 05269806001). Další údaje naleznete v příslušných metodických listech.

DODÁVANÁ REAGENCIE

Protilátka VENTANA anti-p63 (4A4) obsahuje dostatek reagencie pro 50 testů.

Jeden 5 mL dávkovač protilátky VENTANA anti-p63 (4A4) obsahuje přibližně 0.7 µg myší monoklonální protilátky.

Protilátka je naředěna v 0.05 M tris-HCl s obsahem 1 % proteinového nosiče a konzervační látky ProClin 300.

Celková koncentrace proteinů v reagentii je přibližně 10 mg/mL. Koncentrace specifické protilátky je přibližně 0.140 µg/mL. Pro tento výrobek není známa žádná nespecifická reaktivita protilátky.

VENTANA anti-p63 (4A4) je monoklonální protilátka produkovaná jako supernatant buněčné kultury.

V příslušných metodických listech k detekční soupravě VENTANA naleznete podrobné popisy: principu postupu, materiálu a metod, odběru vzorků a přípravy na analýzu, postupu kontroly kvality, řešení problémů, interpretace výsledků a obecných omezení.

POTŘEBNÉ MATERIÁLY, KTERÉ NEJSOU SOUČÁSTÍ DODÁVKY

Barvicí reagentie, například detekční soupravy VENTANA, a pomocné materiály, včetně kontrolních sklíček pro negativní a pozitivní tkáň, 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 Ig (kat. č. 760-2014 / 05266670001)
4. *ultraView* Universal DAB Detection Kit (kat. č. 760-500 / 05269806001)
5. EZ Prep Concentrate (10X) (kat. č. 950-102 / 05279771001)
6. Reaction Buffer Concentrate (10X) (kat. č. 950-300 / 05353955001)
7. LCS (Predilute) (kat. č. 650-010 / 05264839001)
8. ULTRA LCS (Predilute) (kat. č. 650-210 / 05424534001)
9. Cell Conditioning Solution (CC1) (kat. č. 950-124 / 05279801001)
10. ULTRA Cell Conditioning Solution (ULTRA CC1) (kat. č. 950-224 / 05424569001)
11. Hematoxylin II (kat. č. 790-2208 / 05277965001)
12. Bluing Reagent (kat. č. 760-2037 / 05266769001)
13. Trvalé fixační médium
14. Krycí sklo
15. Automatizovaný podavač krycích sklíček
16. Obecné laboratorní vybavení
17. 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 svislé 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 reagentii 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 pufrovaný formalín.¹³ Sklíčka je třeba neprodeně obarvit, neboť antigenost tkáňových řezů se může s postupem času snižovat.

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.

- 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.
- Sklička s kladným nábojem mohou být citlivá na zátěž prostředí, což může u kterékoliv analýzy IHC vést k neodpovídajícímu barvení (například na tkáni může být nedostatek primární protilátky nebo kontrastního barviva). Požádejte zástupce společnosti Roche o kopii dokumentu „Impacts of Environmental Stresses on IHC Positively Charged Slides“, abyste lépe porozuměli tomu, jak tyto typy sklíček používat.
- 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 směnicemi odpovědných orgánů.^{14,15}
- Zabraňte kontaktu reagentii s očima a sliznicemi. Jestliže se reagentie dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte zasažené oblasti vydatným množstvím vody.
- Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagentii, mohla by způsobit nepřesnost výsledků.
- Další informace o používání tohoto prostředku obsahuje návod k obsluze přístroje BenchMark IHC/ISH a návody k použití všech nezbytných součástí.
- Doporučené metody likvidace jsou uvedeny v celostátních a/nebo místních předpisech.
- Označení produktu bezpečnostními štítky se řídí hlavně pokyny GHS EU. Bezpečnostní list je k dispozici na vyžádání.
- 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.

Tato protilátka nebo analýza obsahuje součásti klasifikované podle směrnice (ES) č. 1272/2008 následovně:

Tabulka 1. Informace o rizicích.

Riziko	Kód	Věta
 Varování	H317	Může vyvolat alergickou kožní reakci.
	H412	Škodlivý pro vodní organismy s dlouhodobými účinky.
	P261	Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů.
	P273	Zabraňte uvolňování do životního prostředí.
	P280	Používejte ochranné rukavice.
	P333 + P313	Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
	P362 + P364	Svlékněte si kontaminovaný oděv a před dalším použitím ho vyperte.
	P501	Zlikvidujte obsah/obal předáním do schváleného zařízení k likvidaci odpadu.

Tento produkt obsahuje CAS č. 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 uvádí Tabulka 2 a Tabulka 3.

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 návodu k obsluze přístroje. Další podrobné informace o postupech imunohistochemického barvení naleznete v příbalové informaci k příslušné detekční soupravě VENTANA.

Další podrobnosti o správném používání tohoto prostředku najdete v metodickém listu ke vkládacímu dávkovači (P/N 790-4509).

Tabulka 2. Doporučený barvicí protokol pro protilátku VENTANA anti-p63 (4A4) s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit na přístrojích BenchMark IHC/ISH.

Typ postupu	Metoda	
	XT	ULTRA
Odparafinování	Zvoleno	Zvoleno
Úprava buněk (odmaskování antigenu)	Cell Conditioning 1, standardní	ULTRA Cell Conditioning 1 standardní
Protilátka (primární)	16 minut, 37 °C	20 minut, 36 °C
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“.¹⁶

POZITIVNÍ KONTROLA TKÁNĚ

Nejvhodnějším laboratorním postupem je uložit řez pro pozitivní kontrolu na stejné skličko jako testovanou tkáň. Při nanášení reagentie na skličko pak lze snáze zjistit případné závady. Pro kontrolu kvality je nejvhodnější tkáň se slabým pozitivním zbarvením. Kontrolní tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené prvky a sloužit pro pozitivní i negativní kontrolu. Kontrolní tkáň by měl být čerstvý vzorek z pitvy, biopsie nebo operace, zpracovaný a fixovaný co nejdříve stejným způsobem jako testované řezy. Známé pozitivní kontroly tkání je nutno používat pouze ke sledování správné funkce reagentii a přístrojů, nikoli jako pomůcku ke stanovení konkrétní diagnózy testovaných vzorků. Pokud pozitivní kontroly tkání pozitivně zbarvení nevykazují, je třeba považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Příklady tkáně pro pozitivní kontrolu této protilátky jsou normální prostata a normální mandle.

INTERPRETACE BARVENÍ / OČEKÁVANÉ VÝSLEDKY

Charakteristika buněčného barvení pro protilátku VENTANA anti-p63 (4A4) je nukleární.

SPECIFICKÁ OMEZENÍ

Tato protilátka byla optimalizována pro dobu inkubace na přístroji BenchMark IHC/ISH v kombinaci s detekční soupravou *ultraView* Universal DAB Detection Kit, uživatel však musí výsledky získané s touto reagentií validovat.

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

FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

ANALYTICKÁ VÝKONNOST

Níže jsou uvedeny výsledky provedených testů barvení týkajících se specifity, senzitivity a opakovatelnosti.

Citlivost a specificita

Tabulka 3. Senzitivita/specificita protilátky VENTANA anti-p63 (4A4) byla stanovena testováním běžných tkání FFPE.

Tkáň	Počet pozitivních případů/ celkový počet případů	Tkáň	Počet pozitivních případů/ celkový počet případů
Mozek	0/3	Brzlík	2/3
Mozeček	0/3	Myeloidní tkáň (kostní dřeň)	0/3
Nadledvinka	0/3	Mezotel a plíce	0/13
Vaječník	0/3	Srdce	0/3
Slinivka břišní	0/3	Jícen	1/3
Příštitné tělísko	0/3	Žaludek	0/3
Hypofýza (podvěsek mozkový)	0/3	Tenké střevo	0/3
Varle ^a	2/3	Tlusté střevo	0/3
Štítná žláza	0/3	Játra	0/3
Prs	21/21	Slinná žláza ^a	3/3
Slezina	0/3	Ledvina	0/3
Mandle	3/3	Prostata	64/65
Endometrium	0/3	Děložní hrdlo	3/3
Kosterní sval	0/3	Kůže	3/3
Periferní nerv	0/3		

^a Fokální barvení

Tabulka 4. Senzitivita/specificita protilátky VENTANA anti-p63 (4A4) byla stanovena testováním řady nádorových tkání FFPE.

Patologie	Počet pozitivních případů/ celkový počet případů
Glioblastom (mozek) ^a	1/1
Meningiom (mozek)	1/1
Ependymom (mozek)	0/1
Oligodendrogliom (mozek)	0/1
Serózní karcinom (vaječník)	0/1
Mucinózní karcinom (vaječník)	0/1
Pankreatický neuroendokrinní novotvar (slinivka břišní)	0/1
Adenokarcinom (slinivka)	1/1
Seminom (varle)	0/1
Embryonální karcinom (varle)	0/1

Patologie	Počet pozitivních případů/ celkový počet případů
Medulární karcinom (štítná žláza)	0/1
Papilární karcinom (štítná žláza)	0/1
B-buněčný lymfom, NOS (slezina)	0/1
Malobuněčný karcinom (plíce)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (plíce) ^b	131/150
Adenokarcinom (plíce) ^b	12/116
Karcinom ze skvamózních buněk (jícen)	1/1
Adenokarcinom (jícen)	0/1
Mucinózní adenokarcinom (žaludek)	0/1
Adenokarcinom (gastrointestinální)	0/3
Gastrointestinální stromální tumor (GIST)	0/3
Hepatocelulární karcinom (játra)	0/1
Hepatoblastom (játra)	0/1
Karcinom z jasných buněk (ledvina)	0/1
Adenokarcinom (prostata)	1/113
Leiomyosarkom (prostata)	0/1
Uroteliální karcinom (prostatická močová trubice)	1/1
Leiomyom (děloha)	0/1
Karcinom (děloha)	0/1
Karcinom z jasných buněk (děloha)	0/1
Karcinom ze skvamózních buněk (děloha)	1/2
Embryonální rhabdomyosarkom (pruhovaný sval) ^a	1/1
Melanom (řít')	0/1
Karcinom z bazálních buněk (kůže)	1/1
Karcinom ze skvamózních buněk (kůže)	1/1
Neurofibrom (lumbální)	0/1
Neuroblastom (retroperitoneum)	0/1
Epiteloidní mezoteliom	0/1
Lymfom, NOS (lymfatická uzlina)	2/3
Hodgkinův lymfom (lymfatická uzlina)	0/1
Uroteliální karcinom (močový měchýř)	1/1
Leiomyosarkom (močový měchýř)	0/2
Osteosarkom	0/1
Rhabdomyosarkom z vřetenovitých buněk (peritoneum)	0/1
Lobulární karcinom in situ (LCIS) (prs) ^c	3/3

Patologie	Počet pozitivních případů/ celkový počet případů
Duktální karcinom in situ (DCIS) (prs) ^c	8/10
Invazivní duktální karcinom (prs)	2/9
Invazivní lobulární karcinom (prs)	0/8

^a Fokální barvení.

^b Některé případy prokázaly fokální zbarvení.

^c Pozitivní barvení normálních myoepiteliálních buněk.

Preciznost

Studie preciznosti pro protilátku VENTANA anti-p63 (4A4) byly provedeny za účelem prokázání:

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

Všechny studie splnily kritéria přijatelnosti.

KLINICKÁ VÝKONNOST

Údaje o klinické funkčnosti relevantní pro zamýšlený účel protilátky VENTANA anti-p63 (4A4) byly hodnoceny systematickou literární rešerší. Shromážděné údaje podporují použití zařízení v souladu s jeho zamýšleným účelem.

LITERATURA

1. Yang A, Kaghad M, Wang Y, et al. p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities. *Mol Cell*. 1998;2:305-16
2. Yang A, Schweitzer R, Sun D, et al. p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development. *Nature*. 1999;398:714-718.
3. Nobre AR, Albergaria A, Schmitt F. P40: A P63 Isoform Useful for Lung Cancer Diagnosis - a Review of the Physiological and Pathological Role of P63. *Acta Cytol*. 2013;57(1):1-8.
4. Barbareschi M, Pecciarini L, Cangi MG, et al. P63, a P53 Homologue, Is a Selective Nuclear Marker of Myoepithelial Cells of the Human Breast. *Am J Surg Pathol*. 2001;25(8):1054-1060.
5. Signoretti S, Waltregny D, Dilks J, et al. p63 is a prostate basal cell marker and is required for prostate development. *Am J Pathol*. 2000;157:1769-1775.
6. Epstein JI, Egevad L, Humphrey PA, et al. Best Practices Recommendations in the Application of Immunohistochemistry in the Prostate: Report from the International Society of Urologic Pathology Consensus Conference. *Am J Surg Pathol*. 2014;38(8):e6-e19.
7. Zhao L, Yang X, Khan A, et al. Diagnostic Role of Immunohistochemistry in the Evaluation of Breast Pathology Specimens. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138(1):16-24.
8. Dewar R, Fadare O, Gilmore H, et al. Best Practices in Diagnostic Immunohistochemistry: Myoepithelial Markers in Breast Pathology. *Arch Pathol Lab Med*. 2011;135(4):422-429.
9. Hanna JM, Onaitis MW. Cell of Origin of Lung Cancer. *J Carcinog*. 2013;12:6.
10. Warth A, Muley T, Herpel E, et al. Large-Scale Comparative Analyses of Immunomarkers for Diagnostic Subtyping of Non-Small-Cell Lung Cancer Biopsies. *Histopathology*. 2012;61(6):1017-1025.
11. Rekhtman N, Ang DC, Sima CS, et al. Immunohistochemical Algorithm for Differentiation of Lung Adenocarcinoma and Squamous Cell Carcinoma Based on Large Series of Whole-Tissue Sections with Validation in Small Specimens. *Mod Pathol*. 2011;24(10):1348-1359.
12. Tacha D, Yu C, Bremer R, et al. A 6-antibody panel for the classification of lung adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2012;20:201-207.

13. Carson F, Hladik C. *Histotechnology: A Self Instructional Text*, 3rd edition. Hong Kong: American Society for Clinical Pathology Press; 2009.
14. Occupational Safety and Health Standards: Occupational exposure to hazardous chemicals in laboratories. (29 CFR Part 1910.1450). Fed. Register.
15. 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.
16. Roche PC, Hsi ED. *Immunohistochemistry-Principles and Advances*. Manual of Clinical Laboratory Immunology, 6th edition. In: 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>

Symbole

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):



Číslo položky Global Trade

DUŠEVNÍ VLASTNICTVÍ

VENTANA, BENCHMARK, *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.

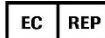
© 2020 Ventana Medical Systems, Inc.

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



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

