

**Monoclonal Mouse
Anti-Human p53 Protein**
Clone DO-7

Code M7001

ENGLISH

Intended use	<p>For in vitro diagnostic use.</p> <p>Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels wild-type and mutant-type p53 protein and is a useful tool for investigation of p53 accumulation in human neoplasias (1, 2). Differential classification of tumors is aided by the results from a panel of antibodies. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.</p>
Summary and explanation	<p>p53 is a nuclear phosphoprotein with a molecular mass of 53 kDa. Wild-type p53 protein is present in a wide variety of normal cells, but the protein has a very short half-life and thus is present in only minute amounts (1), generally below the detection level of immunocytochemical methods (3). Somatic mutation of the <i>p53</i> gene is a very frequent event in the development of human neoplasia, and because mutant p53 proteins often are much more stable than wild-type p53 protein, the mutant p53 protein accumulates to a high level (1). As examples, p53 protein accumulation was observed in 76% of 212 human malignant lesions, including breast, colon and stomach carcinomas, melanoma, embryonal carcinoma of the testis, transitional carcinoma of the urinary bladder, uterine carcinoma and soft tissue sarcomas (4).</p> <p>Wild-type p53 protein functions as a transcription factor, i.e. as a modulator which can turn crucial genes either on or off. It also inhibits DNA replication and is a check-point control molecule for progression of the cell cycle. Furthermore, p53 protein is involved in the regulation of apoptosis. In transfection assays, wild-type <i>p53</i> behaves as a tumor suppressor, while mutant <i>p53</i> behaves as a dominant transforming oncogene (1).</p> <p>Refer to <i>Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure; Materials Required, Not Supplied; Storage; Specimen Preparation; Staining Procedure; Quality Control; Troubleshooting; Interpretation of Staining; General Limitations.</p>
Reagent provided	<p>Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant dialysed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and containing 15 mmol/L NaN₃.</p> <p><u>Clone:</u> DO-7 (1). <u>Isotype:</u> IgG2b, kappa.</p> <p><u>Mouse IgG concentration:</u> see label on vial.</p> <p>The protein concentration between lots may vary without influencing the optimal dilution. The titer of each individual lot is compared and adjusted to a reference lot to ensure a consistent immunohistochemical staining performance from lot-to-lot.</p>
Immunogen	Recombinant human wild-type p53 protein (1).
Specificity	<p>SDS-PAGE analysis of immunoprecipitates formed between lysate of the BT474 breast cancer cell line and the antibody shows reaction with a 53 kDa protein corresponding to p53 (1).</p> <p>In Western blotting of lysate of the A431 human vulval carcinoma cell line, the antibody labels a 53 kDa band, corresponding to the mutant type p53, which is expressed by A431. The epitope recognized by the antibody is located between the N-terminal amino acids 1 and 45 and possibly between amino acids 37 and 45 of the human p53 protein (1).</p> <p>In IHC the antibody labels mutant-type p53 in the A431 cell line and wild-type p53 in the SVK14 cell line (SV40-transformed keratinocyte line) (1).</p>
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> For in vitro diagnostic use. For professional users. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.
Storage	Store at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the user must verify the conditions. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.
Specimen preparation	<p><u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin or methacarn (1). Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is required. For tissues fixed in formalin, optimal results are obtained with 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. Less optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, or 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0. Pre-treatment of tissues with proteinase K was found inefficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.</p> <p><u>Frozen sections and cell preparations:</u> The antibody can be used for labeling acetone-fixed, frozen sections and acetone-fixed, cultured cells (1). The user must validate the staining procedure.</p>
Staining procedure	<p>These are guidelines only. Optimal conditions may vary depending on specimen type and preparation method, and should be validated individually by each laboratory. The performance of this antibody should be established by the user when utilized with other manual staining systems or automated platforms.</p> <p><u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein, Code M7001, may be used at a dilution range of 1:25-1:50 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of breast carcinoma and epidermoid carcinoma cell line and using 20 minutes heat-induced</p>

SSM7001CEEFG_01 p. 1/4

epitope retrieval in 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0 and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. The recommended negative control is Dako Mouse IgG2b, Code X0944, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody. Unless the stability of the diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, it is recommended to dilute these reagents immediately before use, or dilute in Dako Antibody Diluent, Code S0809.

Visualization: Dako EnVision+HRP kits, e.g. Code K4005, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Quality control: Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens.

Staining interpretation	Cells labeled by the antibody generally display a nuclear staining pattern, but cytoplasmic staining has been reported in some cases (5).
Performance characteristics	<p>Normal tissues: In normal and reactive mesothelium the antibody labeled 0/40 cases, and in 27 mesotheliomas, normal cells, e.g. fibroblasts and endothelial cells were not labeled (2).</p> <p>Abnormal tissues: In follicular lymphoma an increasing accumulation of p53 in centroblasts is observed with morphological progression resulting in 1/16 cases of grade I, 10/21 cases of grade II, and 6/6 cases of grade III being labeled (3). In mesotheliomas the antibody labeled 7/26 cases of epithelial type (1 to 25% labeled cells), 1/7 cases of mixed type (25 to 50% labeled cells), and 1/3 cases of mesenchymal type (more than 75% labeled cells) (2).</p>

FRANÇAIS

Utilisation prévue	<p>Pour une utilisation diagnostique in vitro.</p> <p>L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein est destiné à une utilisation en immunohistochimie (IHC). L'anticorps marque la protéine p53 de types sauvage et mutant, et facilite la recherche d'accumulation de la p53 dans les néoplasies humaines (1, 2). La classification différentielle des tumeurs est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histochemiques non immunologiques.</p>
Résumé et explication	<p>La p53 est une phosphoprotéine nucléaire ayant une masse moléculaire de 53 kDa. La protéine p53 de type sauvage est présente dans un grand nombre de cellules saines, mais cette protéine a une demi-vie très courte et n'est donc présente qu'en faible teneur (1), généralement en deçà du seuil de détection des méthodes immunocytochimiques (3). La mutation somatique du gène <i>p53</i> est un événement très fréquent dans le développement des néoplasies humaines et, du fait que les protéines p53 mutantes sont souvent beaucoup plus stables que la protéine p53 de type sauvage, la protéine p53 mutante s'accumule à un taux élevé (1). Par exemple, une accumulation de protéine p53 a été observée dans 76% des 212 lésions malignes humaines, notamment les carcinomes du sein, du côlon et de l'estomac, le mélanome, le carcinome embryonnaire du testicule, le carcinome transitionnel de la vessie, le carcinome utérin et les sarcomes des tissus mous (4).</p> <p>La protéine p53 de type sauvage agit comme facteur de transcription, c'est-à-dire comme modulateur qui peut soit activer, soit désactiver des gènes cruciaux. Elle inhibe également la réplication de l'ADN et est une molécule de contrôle des différentes étapes de la progression du cycle cellulaire. De plus, la protéine p53 est impliquée dans la régulation de l'apoptose. Dans les essais de transfection, la p53 de type sauvage se comporte comme suppresseur tumoral, alors que la p53 mutante agit comme oncogène transformant dominant (1).</p> <p>Consulter le document <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du système de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.</p>
Réactifs fournis	<p>Anticorps monoclonal de souris, fourni sous forme liquide en tant que surnageant de culture cellulaire, dialysé contre 0,05 mol/L de Tris/HCl, à pH 7,2, et contenant 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN₃).</p> <p>Clone : DO-7 (1). Isotype : IgG2b, kappa.</p> <p>Concentration en IgG de souris : Voir l'étiquette sur le flacon.</p> <p>La concentration en protéines peut varier d'un lot à l'autre sans que cela influence la dilution optimale. Le titre de chaque lot est comparé et ajusté par rapport à un lot de référence pour assurer des performances de coloration immunohistochimiques cohérentes d'un lot à l'autre.</p>
Immunogène	Protéine p53 recombinante humaine de type sauvage (1).
Spécificité	<p>L'immunoblot PAGE en présence de SDS d'immunoprécipités formés entre le lysat de lignée cellulaire de cancer du sein BT474 et l'anticorps présente une réaction à une protéine de 53 kDa correspondant à la p53 (1).</p> <p>Dans les analyses par Western blot du lysat de lignée cellulaire de carcinome vulvaire humain A431, l'anticorps marque une bande de 53 kDa, correspondant à la p53 de type mutant, qui est exprimée par l'A431. L'épitope reconnu par l'anticorps est localisé entre les acides aminés 1 et 45 du N-terminal et éventuellement entre les acides aminés 37 et 45 de la protéine p53 humaine (1).</p> <p>En immunohistochimie, l'anticorps marque la p53 de type mutant dans la lignée cellulaire A431 et la p53 de type sauvage dans la lignée cellulaire SVK14 (lignée de kératinocytes transformés par SV40) (1).</p>
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none">1. Pour utilisation diagnostique in vitro.2. Pour utilisateurs professionnels.3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.4. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées.5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.
Conservation	Conservé entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.
Préparation des échantillons	<p>Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol ou au Méthacarn (1). Le prétraitement des tissus déparaffinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est nécessaire. Pour les tissus fixés au formol, des résultats optimaux sont obtenus dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0. Des résultats moins optimaux sont obtenus avec la Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, ou dans un tampon citrate à 10 mmol/L, à pH 6,0. Le</p> <p>SSM7001CEEFG_01 p. 2/4</p>

prétraitement des tissus par la protéinase K s'est révélé inefficace. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante.

Coupes congelées et préparations cellulaires : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes congelées, fixées à l'acétone et des cellules cultivées, fixées à l'acétone (1). L'utilisateur doit valider la procédure de coloration.

Procédure de coloration

Il ne s'agit là que de conseils. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du type de prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être validées individuellement par chaque laboratoire. Les performances de cet anticorps doivent être établies par l'utilisateur lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuelle ou plates-formes automatisées.

Dilution : Le Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein, réf. M7001, peut être utilisé à une gamme de dilution de 1:25 à 1:50 lorsqu'il est appliqué sur des coupes de carcinomes du sein et de lignée cellulaire de carcinome épidermoïde fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant une restauration d'épitope induite par la chaleur de 20 minutes dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0 et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Mouse IgG2b, réf. X0944, dilué à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie dans la procédure de coloration en cours, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation ou de les diluer avec le produit Dako Antibody Diluent, réf. S0809.

Visualisation : Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+HRP, réf. K4005. Suivre la procédure incluse dans le kit de visualisation sélectionnée.

Contrôle de qualité : Les tissus de contrôle positifs et négatifs, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients.

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent généralement un motif de coloration nucléaire, mais une coloration cytoplasmique a été signalée dans certains cas (5).

Performances

Tissus sains : Dans le mésothélium sain et réactif, l'anticorps a marqué 0 cas sur 40, et dans 27 mésothéliomes, les cellules saines, par exemple les fibroblastes et les cellules endothéliales, n'étaient pas marquées (2).

Tissus anormaux : Dans le lymphome folliculaire, une accumulation croissante de p53 dans les centroblastes est observée avec une évolution morphologique entraînant le marquage de 1 cas sur 16 de grade I, 10 cas sur 21 de grade II et 6 cas sur 6 de grade III (3). Dans les mésothéliomes, l'anticorps marque 7 cas sur 26 de type épithélial (1 à 25% de cellules marquées), 1 cas sur 7 de type mixte (25 à 50% de cellules marquées) et 1 cas sur 3 de type mésoenchymateux (plus de 75% de cellules marquées) (2).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Der Antikörper markiert den Wildtyp und den Mutantentyp des p53-Proteins und unterstützt die Untersuchung der p53-Akkumulation in menschlichen Neoplasien (1, 2). Die Differenzialklassifikation von Tumoren wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer eintretenden oder ausbleibenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden. Dieser Antikörper kommt nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen zum Einsatz.

Zusammenfassung und Erklärung

p53 ist ein nukleares Phosphoprotein mit einem Molekulargewicht von 53 kDa. Wildtyp-p53-Protein findet sich in einer Vielfalt normaler Zellen. Seine Halbwertszeit ist jedoch sehr kurz, so dass es nur in winzigen Mengen vorliegt (1) und die Nachweisgrenze in der Regel immunzytochemische Methoden unterschreitet (3). Die somatische Mutation des p53-Gens ist ein sehr häufiges Ereignis bei der Entstehung menschlicher Neoplasien. Weil mutante p53-Proteine oft bedeutend stabiler als das Wildtyp-p53-Protein sind, kann mutantes p53-Protein einen hohen Spiegel erreichen (1). Akkumulationen von p53-Protein wurden beispielsweise bei 76% der 212 malignen Läsionen des Menschen beobachtet, darunter Brust-, Dickdarm- und Magenkarzinome, Melanome, embryonale Karzinome der Hoden, Übergangskarzinome der Harnblase, Uteruskarzinome und Weichteilsarkome (4).

Das Wildtyp-p53-Protein fungiert als Transkriptionsfaktor, d. h. als Modulator, der ausschlaggebende Gene ein- und ausschalten kann. Es hemmt zudem die DNA-Replikation und ist ein „Checkpoint“-Molekül für die Zellzyklusprogression. Darüber hinaus ist das p53-Protein an der Regulation der Apoptose beteiligt. Bei Transfektionsassays verhält sich das Wildtyp-p53 wie ein Tumorsuppressor, während mutantes p53 als dominantes transformierendes Onkogen fungiert (1).

Folgende Angaben bitte den *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien, Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, Lagerung, Gewebevorbereitung, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Monoklonale Mausantikörper in flüssiger Form als gegen 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 und 15 mmol/L Na₃N₃ dialysierter Zellkulturüberstand.

Klon: DO-7 (1). **Isotyp:** IgG2b, Kappa.

Konzentration von Maus-IgG: Siehe Behälteretikett.

Die Proteinkonzentration kann zwischen Chargen abweichen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer jeder Charge wird mit dem einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färbeergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

Immunogen

Rekombinantes humanes Wildtyp-p53-Protein (1).

Spezifität

Eine SDS-PAGE-Analyse der Immunpräzipitate, die zwischen dem Lysat aus der BT474-Brustkrebszelllinie und dem Antikörper gebildet wurden, zeigte eine Reaktion mit einem 53 kDa schweren, p53 entsprechenden Protein (1).

Beim Western-Blotting von Lysaten der menschlichen Vulvakarzinom-Zelllinie A431 markiert der Antikörper eine 53-kDa-Bande, die dem mutanten Typ p53 entspricht, der von A431 exprimiert wird. Das vom Antikörper erkannte Epitop ist zwischen den N-terminalen Aminosäuren 1 und 45 und möglicherweise zwischen den Aminosäuren 37 und 45 des menschlichen p53-Proteins lokalisiert (1).

In der IHC markiert der Antikörper den mutanten Typ p53 in der A431-Zelllinie und den Wildtyp p53 in der SVK14-Zelllinie (SV40-transformierte keratinozyte Linie) (1).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.





SSM7001CEEFG_01 p. 3/4

Lagerung	Bei 2-8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.
Gewebevorbereitung	<p>Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, in Formalin oder Methacarn (1) fixierten Gewebeschnitten verwendet werden. Die Vorbehandlung des Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ist erforderlich. Bei in Formalin fixiertem Gewebe werden optimale Resultate mit 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0, erzielt. Weniger optimale Resultate werden mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, oder 10 mmol/L Zitratpuffer, pH 6,0, erzielt. Die Vorbehandlung der Gewebe mit Proteinase K erwies sich als wirkungslos. Während der Gewebevorbereitung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.</p> <p>Gefrierschnitte und Zellpräparate: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten und azetonfixierten kultivierten Zellen (1). Das Färbeverfahren muss vom Anwender validiert werden.</p>
Färbeverfahren	<p>Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Bedingungen können je nach Gewebetyp und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Leistung dieses Antikörpers sollte vom Benutzer bei einem Einsatz mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Systemen ermittelt werden.</p> <p>Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human p53 Protein, Code-Nr. M7001, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten einer humanen Mammakarzinom- und Epidermoidkarzinom-Zelllinie bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten in 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0 und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:25 und 1:50 verwendet werden. Als Negativkontrolle wird Dako Mouse IgG2b, Code-Nr. X0944 empfohlen, das auf dieselbe Konzentration von Maus-IgG wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Falls die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle für das verwendete Färbeverfahren nicht erwiesen ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor der Verwendung bzw. in Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, zu verdünnen.</p> <p>Detektionssystem: Dako EnVision+/HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4005) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Detektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.</p> <p>Qualitätskontrolle: Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativ-Kontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.</p>
Auswertung der Färbung	Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen in der Regel ein nukleares Färbemuster auf, in einigen Fällen kann jedoch auch eine zytoplasmatische Färbung auftreten (5).
Leistungseigenschaften	<p>Normalgewebe: Bei normalem und reaktivem Mesothel markierte der Antikörper 0/40 Fällen. Bei 27 Mesotheliomen wurden die normalen Zellen, z. B. Fibroblasten und Endothelzellen, nicht markiert (2).</p> <p>Anormales Gewebe: Beim follikulären Lymphom wird mit morphologischer Progression eine zunehmende Akkumulation von p53 in Zentroblasten beobachtet, mit resultierender Zunahme der positiven Reaktion: 1/16 Fällen bei Grad I, 10/21 Fällen bei Grad II und 6/6 Fällen bei Grad III (3). Bei Mesotheliomen markierte der Antikörper 7/26 Fälle der epithelialen Form (1-25% markierte Zellen), 1/7 Fälle der Mischform (25-50% markierte Zellen) und 1/3 Fälle der mesenchymalen Form (über 75% markierte Zellen) (2).</p>

References/ Bibliographie/ Literaturnachweise

1. Vojtěšek B, Bártek J, Midgley CA, Lane DP. An immunochemical analysis of the human nuclear phosphoprotein p53. New monoclonal antibodies and epitope mapping using recombinant p53. J Immunol Methods 1992;151:237-44.
2. Ramael M, Lemmens G, Eerdekens C, Buysse C, Deblier I, Jacobs W, et al. Immunoreactivity for p53 protein in malignant mesothelioma and non-neoplastic mesothelium. J Pathol 1992;168:371-5.
3. Cooper K, Haffajee Z. bcl-2 and p53 protein expression in follicular lymphoma. J Pathol 1997;182:307-10.
4. Bártek J, Bártková J, Vojtěšek B, Stašková Z, Lukáš J, Rejthar A, et al. Aberrant expression of the p53 oncoprotein is a common feature of a wide spectrum of human malignancies. Oncogene 1991;6:1699-703.
5. Kontogeorgos G, Kapranos N, Thodou E, Sambaziotis D, Tsagarakis S. Immunocytochemical accumulation of p53 in corticotroph adenomas: Relationship with heat shock proteins and apoptosis. Pituitary 1999;1:207-12.

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF	Catalogue number Référence catalogue Katalognummer	 2 °C — 8 °C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller
IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung		
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Use by Utiliser avant Verwendbar bis		

Revision/ Révision/ Revision 2017.10