

Cell Control Array Receptor

Cat. No.: MB-CC REZ

Gebrauchsanweisung

Zweckbestimmung

Der Block Cell Control Array Receptor dient zur generellen Methodenkontrolle (ja/nein) der Färbeergebnisse sowie der Gewährleistung einer gleich bleibenden Sensitivität von immunhistochemischen Färbungen und *in situ*-Hybridisierungen. Er enthält Zelllinien mit verschiedenen Expressionsgraden von Östrogen Rezeptor, Progesteron Rezeptor und HER2.
Für Forschungszwecke.

Zusammenfassung und Erklärung

Vier Zelllinien-Stanzen mit verschiedenen Expressionsgraden von Östrogen Rezeptor (ER), Progesteron Rezeptor (PR) und HER2 sowie zur Orientierung eine zusätzliche Stanze Herzmuskelgewebe wurden in den Block eingebracht. Die Stanzen wurden mit dem umgebenden Paraffin homogen verschmolzen. Die Zelllinien zeigen ein unterschiedliches Reaktionsmuster für immunhistochemische Färbungen auf Östrogen- und Progesteronrezeptoren (ER und PR), sowie auf HER2 (*c-erbB2*). Auch Proliferationsmarker können am MB-CC REZ Array dargestellt werden. Der Block ist ebenfalls für die *in situ*-Hybridisierung geeignet. Die Zellen wurden 12 bis 18 Stunden bei pH 7 in gepuffertem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Zur leichteren Erkennung beim Anschneiden und Aufziehen wurde das Paraffin des Blockes rosa eingefärbt. Die eingebrachten Stanzen mit Herzmuskelgewebe dienen dem gleichen Zweck sowie ebenfalls der Orientierung im Schnitt. Die kleine Schnittfläche ermöglicht ein gleichzeitiges Aufziehen von zu untersuchendem Gewebe und dem Cell Control Array Receptor. Diese "on-slide-control-array-Färbung" dokumentiert auch noch nach Jahren die Färbeleistung auf dem archivierten Schnitt.

Geliefertes Produkt

REF / Cat. No. MB-CC REZ
1 Block Cell Control Array Receptor

Lagerung und Handhabung

Der Block sollte trocken und bei Raumtemperatur im mitgelieferten Döschen gelagert werden. Der Block ist ohne weitere Hilfsmittel schneidbar, sollte aber vorsichtig in das Mikrotom eingespannt werden, da er sonst reißen kann. Es ist darauf zu achten, dass der Block nicht tiefer als -15°C gekühlt wird, da er sonst ebenfalls reißen kann. Die Schnitte (3-5 µm) sollten auf adhäsive Objektträger aufgezogen und bei 37°C über Nacht oder 2 Stunden bei 65°C getrocknet werden. Schnitte für *in situ*-Hybridisierungen sollten 5 bis 7 µm dick sein. Bei fachtechnisch regelgerechtem Anschnitt können mindestens 100 Schnitte angefertigt werden; erfahrungsgemäß 130 bis 170 Schnitte. Dies hängt von der Handhabung des Blockes, insbesondere von der Häufigkeit des Anschnitts und der Schnittdicke ab. Die Schnitte sollten erst kurz vor der Anwendung hergestellt werden, um unnötiges Altern zu vermeiden. Geschnittene Kontrollen sollten nicht älter als 6 Wochen sein. Aus produktionstechnischen Gründen befindet sich eine dünne Paraffinschicht oberhalb der Zelllinienstanzen. Der Block ist gebrauchsfertig sobald die Paraffinschicht weggeschnitten ist und alle Zellstanzen frei zugänglich sind. Die Tiefe der Zelllinienstanzen beträgt mindestens 2 mm; sie kann von Array zu Array leicht differieren. Zusätzlich zu den Zellstanzen ist Herzmuskelgewebe in den Array eingebracht, um beim Aufziehen und Mikroskopieren eine rasche und einfache Lokalisierung der aufgezogenen Schnitte auf den Objektträgern zu gewährleisten.

Vorsichtsmaßnahmen

Anwendung durch geschultes Fachpersonal.
Eine Gesundheitsgefährdung durch den Array-Block ist nicht zu erwarten. Er sollte jedoch wie jedes potenziell infektiöse, formalinfixierte und paraffineingebettete Humanmaterial behandelt werden. Geeignete Schutzkleidung ist zu tragen. Ein Sicherheitsdatenblatt für das Fachpersonal ist auf Anfrage erhältlich.

Auswertung

Die spezielle Auswahl der Zelllinien stellt in erster Linie eine generelle Methodenkontrolle (ja/nein) dar. Durch die Verwendung nur gering ER/PR positiver Linien ist jedoch auch eine Unterscheidung von niedriger und hoher Färbesensitivität möglich. Wenn in der Rezeptoranalyse (ER/PR) >10% der Zellen eine mittelstarke Kernfärbung zeigen, kann die Reaktion als positiv bei ausreichender Sensitivität gewertet werden. Bei hoher Färbesensitivität ist eine mittlere bis starke Kernfärbung in >60% der Zellen zu erwarten.

Die Abbildung zeigt typische Reaktionsmuster bei Verwendung der jeweiligen Nachweissysteme und Antikörperverdünnungen.

► Übersicht typischer Reaktionsmuster

	Immunhistochemie						Negativkontrolle Herzmuskel Keine Amplifikation „no amplification“ 1-2 Genkopien Geringe Amplifikation „low amplification“ ≤ 4 Genkopien Hohe Amplifikation „high amplification“ ≥ 8 Genkopien	
	Streptavidin Biotin/2 Komponenten AEC			Polymer AP/HRP				
ER Klon: 1D5							1:200	1:300
PR Klon: SP42							1:200	1:200
HER2 Klon: SP3							1:25	1:25

HER2 ISH		

Verwendete Reagenzien

Antikörper:

Estrogen Receptor, 1D5 (MSK001); Progesterone Receptor, SP42 (RBK020); HER2, SP3 (RBK026)

Detektionssystem:

Streptavidin-Biotin System: ZytoChem Plus HRP (HRP125) in Kombination mit AEC (ZUC042-050)

Polymer HRP: ZytoChem Plus Polymer (POLHRP-100) in Kombination mit DAB (DAB057)

Polymer AP: ZytoChem Plus Polymer (POLAP-100) in Kombination mit Permanent AP-Red (ZUC001-125)

Fehlersuche

Sollte eine ungewöhnliche Färbung auftreten, so lesen Sie bitte die Packungsbeilage auf eventuelle Hinweise oder kontaktieren Sie den Hersteller.

Grenzen der Methode

Zahlreiche Faktoren können die Ergebnisse der immunhistochemischen Reaktion des MB-CC REZ wesentlich beeinflussen. Dazu zählen die verwendeten Reagenzien, wie z.B. der Antikörperklon, das Detektionssystem und der Vorbehandlungspuffer (Citrat- oder TRIS/EDTA- Puffer). Besonders die Sensitivität des Detektionssystems und des Chromogens nehmen Einfluss auf die Färbeintensität. Bei einem hoch sensitiven System kann es vorkommen, dass alle ER Stenzen gleich stark angefärbt sind, denn das Schema zeigt nur die Mindest-Anfärbbarkeit. Ein scheinbar paradoxes Färbeergebnis (z.B. Negativität am MB-CC REZ bei Positivität des Tumors) kann auftreten bei hoher ER-Positivität des Tumors und gleichzeitig relativ geringer Färbesensitivität. Dann erscheinen die niedrig ER-positiven Kontrollzelllinien negativ.

Aus diesem Grund ist es sinnvoll, bei der Austestung und Verdünnungsbestimmung eines Antikörpers sowohl einen MB-CC REZ-Schnitt, als auch unterschiedlich stark positive Tumorgewebe zu verwenden.

Für das Färbeergebniss spielen weiterhin die Schnittdicke, die Temperatur beim Trocknen der Schnitte, die Dauer der Lagerung der Schnitte und das verwendete Hämatoxylin eine entscheidende Rolle.

Zytomed Systems garantiert, dass das Produkt bei korrekter Lagerung und Handhabung bis zum Ablauf des Haltbarkeitsdatums allen beschriebenen Anforderungen entspricht. Darüber hinaus gehende Garantien können nicht gegeben werden.

Leistungsdaten

Zytomed Systems hat Studien hinsichtlich der Leistung des Produktes durchgeführt. Das Produkt wurde als geeignet für den vorgesehenen Verwendungszweck beurteilt.

Literatur

Sharpe R et al. Clin Cancer Res 17:5275-86 (2011)

Subik K et al. Breast Cancer: Basic Clin Res 4:35-41 (2010)

Dabbs D Immunohistochemistry, Elsevier 2006 ISBN 0-443-06652-3

Horwitz et al. Cancer Res 38:2434-37 (1978)

Leitlinie Mammpathologie S3, 3. Auflage 2012, BVDP und DGP

29. Oktober 2015

Ref.: A01015

Doc: DB_MB-CC REZ

Erläuterung der auf dem Produktetikett verwendeten Symbole:

	Bestellnummer Catalog Number Reference du catalogue		Verwendbar bis Use By Utiliser jusque		Gebrauchsanweisung beachten Consult Instructions for use Consulter les instructions d'utilisation
	Chargenbezeichnung Batch Code Code du lot		Lagerungstemperatur Temperature Limitation Limites de température		Nur für Forschungszwecke For Research Use Only Pour la recherche uniquement
	In vitro Diagnostikum In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro		Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Hersteller / Manufacturer / Fabricant Zytomed Systems GmbH Anhaltinerstraße 16 14163 Berlin, Germany Tel: (+49) 30-804 984 990 www.zytomed-systems.de
	Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Achtung Warning Attention		Gefahr Danger Danger