

**p16 INK4a [BC42]**

Skoncentrowane i wstępnie rozcieńczone przeciwciała monoklonalne  
 901-3231-030921

Dostępne formaty produktów				
Format	Numer katalogu	Opis	Roztwór	Rozpuszczalnik
Concentrate	ACI 3231 A, C	0,1, 1,0 ml	1:100	Renoir czerwony
Predilute	API 3231 AA, H	6,0, 25 ml	Gotowy do użycia	Nie dotyczy
ONCORE Pro	OPAI 3231 T60	60 testów	Gotowy do użycia	Nie dotyczy
VALENT	VLTM 3231 G20	20 ml	Gotowy do użycia	Nie dotyczy
UltraLine – For BenchMark	AVI 3231 G, G25	6,0, 25 ml	Gotowy do użycia	Nie dotyczy
Q Series – For Leica BOND-III	ALI 3231 G7	7,0 ml	Gotowy do użycia	Nie dotyczy

**Przeznaczenie:**

Do użytku diagnostycznego in vitro

p16 INK4a [BC42] to mysie przeciwciała monoklonalne przeznaczone do użytku laboratoryjnego w jakościowej identyfikacji białka p16 INK4a metodą immunohistochemiczną (IHC) w tkankach ludzkich utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie (FFPE). Kliniczna interpretacja jakiegokolwiek wybarwienia lub jego braku powinna być uzupełniona badaniami morfologicznymi z użyciem odpowiednich kontroli i powinna być oceniona w kontekście historii klinicznej pacjenta i innych badań diagnostycznych przez wykwalifikowanego patologa.

**Podsumowanie i wyjaśnienie:**

p16 INK4a jest białkiem supresorowym guza zaangażowanym w patogenezę różnych nowotworów złośliwych. Jest swoistym inhibitorem cdk4/cdk6. Niedawne analizy genu p16INK4a ujawniły homozygotyczne delecje, mutacje nonsensowne, zmiany sensu lub zmiany ramki odczytu w kilku ludzkich nowotworach (1). Chociaż częstość nieprawidłowości p16 INK4a jest wyższa w liniach komórkowych pochodzących z guza niż w niewyselekcjonowanych guzach pierwotnych, odnotowano znaczące podgrupy przypadków klinicznych z nieprawidłowym genem p16 INK4a wśród czerniaków, glejaków, raków przełyku, trzustki, płuc i pęcherza moczowego. 2). Wykazano również, że immunoreaktywność p16 w tkankach zatopionych w parafinie jest niezależnym predyktorem w małopowłaznym raku urotelialnym pęcherza moczowego; czynnik prognostyczny w niedrobnokomórkowym raku płuca;

**Zasada postępowania:**

Wykrywanie antygenu w tkankach i komórkach jest wieloetapowym procesem immunohistochemicznym. Początkowy etap wiąże przeciwciała pierwszorzędowe z jego specyficznym epitopem. Po

wyznakowaniu antygenu przeciwciałem pierwszorzędowym można zastosować jedno-, dwu- lub trzyetapową procedurę wykrywania. Jednoetapowa procedura będzie obejmować polimer znakowany enzymem, który wiąże się z przeciwciałem pierwotnym. Dwuetapowa procedura będzie polegała na dodaniu drugorzędowego przeciwciała w celu związania się z przeciwciałem pierwszorzędowym. Następnie dodaje się polimer znakowany enzymem, aby związać się z drugorzędowym przeciwciałem. Trzyetapowa procedura wykrywania będzie obejmowała dodanie drugorzędowego przeciwciała w celu związania się z pierwszorzędowym przeciwciałem, a następnie etap przeciwciała łącznika w celu maksymalnego wiązania. Następnie dodaje się polimer znakowany enzymem, aby związać się z przeciwciałem łącznikowym. Te wykrycia związanych przeciwciał są potwierdzane przez reakcję kolorymetryczną.

**Źródło:**Mysz monoklonalna

**Reaktywność gatunków:**Ludzkie, inne nie testowane **klon:**42 pne

**izotyp:**IgG1/kappa

**Stężenie białka:**Zapytaj o stężenie Ig specyficzne dla serii.

**Epitop/antigen:**p16 INK4a

**Lokalizacja komórkowa:**Jądrowe i cytoplazmatyczne

**Pozytywna kontrola tkankowa:**Normalne migdałki, rak szyjki macicy, rak głowy i szyi oraz rak okrężnicy

**Znane zastosowania:**

Immunohistochemia (tkanki utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie) **Dostarczane jako:**Bufor z nośnikiem białkowym i konserwantem **Przechowywanie i stabilność:**

Przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C. Produkt jest stabilny do daty ważności wydrukowanej na etykiecie, jeśli jest przechowywany w tych warunkach. Nie stosować po upływie daty ważności. Rozcieńczone odczynniki należy zużyć niezwłocznie; wszelkie pozostałe odczynniki należy przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C.

**Zalecenia protokołu (VALENT®Automatyczne barwienie szkieł Platforma):**

VLT3231 jest przeznaczony do użytku z VALENT. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania znajdują się w instrukcji obsługi.

Parametry protokołu w Menedżerze protokołów należy zaprogramować w następujący sposób:

**Odparafinowanie:**Deparafinizować przez 8 minut za pomocą Val DePar. **Obróbka wstępna:**Przeprowadzić odzyskiwanie ciepła w temperaturze 98°C przez 60 minut, stosując Val AR-Lo pH, 5X (użyć przy 1X).

**Blok peroksydazy:**Blokuj przez 5 minut za pomocą Val Peroxidase Block. **Blok białkowy (opcjonalnie):**Inkubować przez 10-20 minut w RT z Val Background Block.

**przeciwciała pierwszorzędowe:**Inkubować przez 30 minut.

**Wtórny:** Inkubować przez 10 minut z Val Mouse Secondary.

**Łącznik:**Inkubować przez 10 minut z Val Universal Linker.

**Polimer:**Inkubować przez 10 minut z Val Universal Polymer.

**chromogen:**Inkubować przez 5 minut z Val DAB.

**Kontrast:**Barwić kontrastowo przez 5 minut za pomocą Val Hematoxylin.

**Zalecenia dotyczące protokołu (intelliPATH FLX-i do użytku ręcznego):**

**Blok nadtlenny:**Blokuj przez 5 minut za pomocą Peroxidazed 1. **Obróbka wstępna:** Wykonaj odzyskiwanie ciepła za pomocą Diva Decloaker. Szczegółowe instrukcje znajdują się w arkuszu danych programu Diva Decloaker.

**Blok białkowy (opcjonalnie):**Inkubować przez 5-10 minut w RT z Background Punisher. **przeciwciała pierwszorzędowe:**Inkubować przez 60 minut w temperaturze pokojowej. **Sonda:** Inkubować przez 10 minut w RT z dodatkową sondą. **Polimer:**Inkubować przez 10-20 minut w temperaturze pokojowej z trzeciorzędowym polimerem. **chromogen:**Inkubować przez 5 minut w RT z DAB firmy Biocare -LUB-Inkubować przez 5-7 minut w RT z Warp Red.

**Kontrast:**

Barwienie kontrastowe hematoksyliną. Przepłukać wodą dejonizowaną. Zastosuj Blueing Solution Tacha przez 1 minutę.

Przepłukać wodą dejonizowaną. **Uwaga techniczna:**

To przeciwciała do intelliPATH FLX i użytku ręcznego zostało standaryzowane z systemem detekcji MACH 4. Użyj TBS do etapów mycia.

**Zalecenia dotyczące protokołu (automatyczny system barwienia preparatów ONCORE™ Pro):**

OPAI3231 jest przeznaczony do użytku z ONCORE Pro. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania znajdują się w instrukcji obsługi.

Parametry protokołu w Edytorze protokołów należy zaprogramować w następujący sposób:

**Nazwa protokołu:**s. 16

**Szablon protokołu (opis):**Pani HRP Szablon 1

**Usuwanie wosku (opcja bufora DS):**DS2-50

**Odzyskiwanie antygenu (opcja AR):**AR1, wysokie pH; 101°C **Opcja bloku:**Bufor

**Nazwa odczynnika, czas, temp.:**p16, 59 minut, 25°C

**Zalecenia dotyczące protokołu (Ventana BenchMark ULTRA):**

AVI3231 jest przeznaczony do użytku z testem BenchMark ULTRA. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania znajdują się w instrukcji obsługi. Zalecane parametry protokołu to:

**Szablon/Wykrywanie:**OptiView DAB IHC

**Protokół obróbki wstępnej:**CC1 48 minut

**p16 INK4a [BC42]**

Skoncentrowane i wstępnie rozcieńczone

przeciwciała monoklonalne 901-3231-030921

**Zalecenia dotyczące protokołu (Ventana BenchMark ULTRA) ciąg**

**dalszy:** Peroksydaza:Pre-pierwotny inhibitor peroksydazy

**przeciwciała pierwszorzędowe:**12 minut, 36°C

4. Chen YJ, i in. Wysoka ekspresja p16 przewiduje pozytywną odpowiedź na chemioradioterapię w stadium IVa/b raka

**Zalecenia dotyczące protokołu (seria Q – dla Leica BOND-III):** ALI3231 jest przeznaczony do użytku z Leica BOND-III. Szczegółowe instrukcje dotyczące użytkowania znajdują się w instrukcji obsługi. Zalecane parametry protokołu to:

**Nazwa protokołu:** Protokół IHC F

**Wykrycie:** Udoskonalanie polimeru

wiążącego **HIER:** 20 minut z ER2

**Blok nadtlenu:** 5 minut

**Marker (przeciwciało pierwszorzędowe):** 15 minut **Początek podstawowa:** 8 min **Polimer:** 8 min

**Mieszane uściślenie DAB:** 10 minut

**Hematoksylina:** 5 minut

#### Charakterystyka wydajności:

Czułość, swoistość i reaktywność krzyżową podsumowano odpowiednio w Tabelach 1 i 2.

#### Ograniczenia:

Optymalne rozcieńczenia przeciwciał i protokoły dla konkretnego zastosowania mogą się różnić. Obejmują one między innymi utrwalanie, metodę odzyskiwania ciepła, czasu inkubacji, grubości skrawków tkanki i zastosowany zestaw do wykrywania. Ze względu na doskonałą czułość tych unikalnych odczynników, podane zalecane czasy inkubacji i miana nie mają zastosowania do innych systemów wykrywania, ponieważ wyniki mogą się różnić. Zalecenia i protokoły zawarte w arkuszu danych opierają się na wyłącznym stosowaniu produktów Biocare. Ostatecznie to badacz jest odpowiedzialny za określenie optymalnych warunków. **Kontrola jakości:**

Patrz Standardy jakości CLSI dotyczące projektowania i wdrażania testów immunohistochemicznych; Zatwierdzone wytyczne — wydanie drugie (I/ LA28-A2) CLSI Wayne, PA USA ([www.clsi.org](http://www.clsi.org)). 2011

#### Środki ostrożności:

1. To przeciwciało zawiera mniej niż 0,1% azotku sodu. Stężenia poniżej 0,1% nie są materiałami niebezpiecznymi podlegającymi zgłoszeniu zgodnie z US 29 CFR 1910.1200, komunikatem o zagrożeniach OSHA i dyrektywą WE 91/155/WE. Azotek sodu ( $\text{NaN}_3$ ) stosowany jako środek konserwujący jest toksyczny w przypadku połknięcia. Azotek sodu może reagować z ołowianymi i miedzianymi instalacjami wodociagowymi, tworząc wysoce wybuchowe azydki metali. Po usunięciu spuścić dużą ilość wody, aby zapobiec gromadzeniu się azotku w kanalizacji. (Centrum

plaskonabłonkowego głowy i szyi. Azjatycki Pac J Rak Poprzednia. 2011; 12(3):649-55.

5. Snow AN, Laudadio J. Wykrywanie wirusa brodawczaka ludzkiego w rakach płaskonabłonkowych głowy i szyi. Adwokat Anat Pathol. listopad 2010; 17(6):394-403. 6. Buza N, i in. Odwrotna ekspresja p16 i p63 w raku drobnokomórkowym i raku urotelialnym pęcherza moczowego o wysokim stopniu złośliwości. Int J Surg Pathol. 2010 kwiecień; 18 (2):94-102.

7. Podręcznik Centrum Kontroli Chorób. Przewodnik: Zarządzanie bezpieczeństwem, NR. CDC22, Atlanta, Georgia. 30 kwietnia 1976 „Odkazanie odpływów zlewów laboratoryjnych w celu usunięcia soli azydowych”.

8. Instytut Norm Klinicznych i Laboratoryjnych (CLSI). Ochrona pracowników laboratoriów przed zakażeniami zawodowymi; Zatwierdzone wytyczne — wydanie czwarte, dokument CLSI M29-A4 Wayne, PA 2014. Przeciwciała Ultraline są opracowywane wyłącznie przez Biocare Medical LLC i nie oznaczają zatwierdzenia ani poparcia dla przeciwciał Biocare przez Ventana Medical Systems, Inc lub Roche. Firmy Biocare, Ventana i Roche nie są w żaden sposób powiązane, stowarzyszone ani powiązane. Ventana®, BenchMark®, ultraView i OptiView są znakami towarowymi firmy Roche. Kontroli Chorób, 1976, Narodowy Instytut Bezpieczeństwa i Higieny Pracy, 1976) (7)

2. Z próbkami przed i po utrwaleniu oraz wszystkimi materiałami narażonymi na ich kontakt należy postępować tak, jakby mogły przenosić infekcję i usuwać z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności. Nigdy nie pipetować odczynników ustami i unikać kontaktu odczynników i próbek ze skórą i błonami śluzowymi. Jeśli odczynniki lub próbki zetkną się z wrażliwymi obszarami, przemyj je dużą ilością wody. (8)

3. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne odczynników może spowodować wzrost niespecyficznego barwienia.

4. Czasy inkubacji lub temperatury inne niż podane mogą dawać błędne wyniki. Użytkownik musi zatwierdzić każdą taką zmianę.

5. Nie używać odczynnika po upływie daty ważności wydrukowanej na fiolce.

6. Karta charakterystyki jest dostępna na żądanie i znajduje się pod adresem <http://biocare.net>. **Rozwiązywanie problemów:**

Postępuj zgodnie z zaleceniami protokołu specyficznymi dla przeciwciał zgodnie z dostarczonym arkuszem danych. Jeśli wystąpią nietypowe wyniki, skontaktuj się z pomocą techniczną firmy Biocare pod numerem 1-800-542-2002.

#### Bibliografia:

- LaPak KM, Burd CE. Równowaga molekularna p16 (INK4a) w raku i starzeniu. Mol Cancer Res. luty 2014; 12(2):167-83.
- Mahajan A. Praktyczne zagadnienia zastosowania immunohistochemii p16 w diagnostyce patologicznej. Hum Pathol. 2016 maj; 51:64-74.

3. Tong J, i in. Ekspresja p16 w niedrobnokomórkowym raku płuc i jego znaczenie prognostyczne: metaanaliza opublikowanej literatury. Rak płuc. listopad 2011; 74(2):155-63.

Przeciwciała serii Q są opracowywane wyłącznie przez Biocare Medical LLC i nie oznaczają zatwierdzenia ani poparcia przeciwciał Biocare przez Leica Biosystems. Biocare i Leica Biosystems nie są w żaden sposób powiązane, stowarzyszone ani powiązane. Leica, Leica Biosystems, BOND-MAX i BOND-III są znakami towarowymi firmy Leica Biosystems.

Migdałek	3	3
grasica	3	3
Szpik kostny	3	3
Płuco	0	3
Serce	0	3
Przełyk	2	3
Żołądek	3	3
Jelito cienkie	2	3
Okreźnica	1	3
Wątroba	1	3
gruczoł ślinowy	3	3
Nerka	2	3
Prostata	3	3
Macica	2	3
Szyjka macicy	1	3
Mięśnie szkieletowe	0	2
Skóra	3	3
Nerw obwodowy	1	3
Utrzymujące się komórki	*	3

\* + w płucach; - w mięśniach i tłuszczu

**Tabela 1:** Czulość i swoistość określono, badając chore tkanki utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie.

Papierowa chusteczka	Pozytywny Sprawy	Całkowity Sprawy
Śródnabłonkowa neoplazja szyjki macicy	16	24
Gruczolakorak szyjki macicy	13	22
Rak płaskonabłonkowy szyjki macicy	16	16
Rak głowy i szyi	4	12
Rak pęcherza	28	39
Rak piersi	26	29
Rak jelita grubego	28	35
Rak płuc	25	48
Rak endometrium	42	48
Rak jajnika	10	12
Rak prostaty	10	12
Rak nerki	21	30

#### p16 INK4a [BC42]

Skoncentrowane i wstępnie rozcieńczone  
przeciwciała monoklonalne 901-3231-030921

**Tabela 2:** Reaktywność krzyżową tkanek określono przez badanie normalnych tkanek utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie.

Papierowa chusteczka	Pozytywny Sprawy	Całkowity Sprawy
Mózg	3	3
Mózdzek	3	3
Nadnerkowy	3	3
Jajnik	2	3
Trzustka	3	3
Przytarczycyca	1	3
przysadka mózgowa	3	3
jądro	0	3
Tarczycyca	0	3
Pierś	3	3
Śledziony	3	3