

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Estrogen Receptor α
Clone 1D5
Code M7047**



ENGLISH	
Intended use	For in vitro diagnostic use Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor α , Clone 1D5, is intended for use in immunohistochemistry. The antibody labels estrogen receptor α -positive cells and is useful in the assessment of estrogen receptor α status in human breast carcinomas (1-3). 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.
Summary and explanation	Steroid hormone receptors exhibit a high affinity and specificity for their ligands. The human estrogen receptor (ER) exists in two forms, ER α and ER β . The receptors have a high degree of homology in their DNA binding and ligand binding domains and can form heterodimers. However, the two ERs signal in different ways; for example, ER β does not potentiate the nuclear transcription factor AP-1 when complexed with oestradiol, whereas ER α does. This suggests that ER α and ER β may have different roles in gene regulation and their relative levels within tissues may influence cellular responses to oestrogens (3, 4). In breast cancer, the measurement of ER α status is generally recognized as being useful because the presence of ER α is related to an improved overall survival and a favourable response to endocrine therapy (2, 3, 5, 6).
Reagent provided	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 NaN ₃ . <u>Clone:</u> 1D5 (7). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Mouse IgG concentration:</u> See label on vial. 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.
Immunogen	Soluble recombinant human estrogen receptor (7).
Specificity	The antibody specifically reacts with ER α and shows no reaction with ER β (8, 9). The epitope is located in the N-terminal domain (A/B region) of ER α . In Western immunoblotting using protein extracts from COS cells transfected with a plasmid vector expressing ER, the human breast cancer cell line MCF-7, and human endometrial tissue, the antibody labels a polypeptide of approximately 67 kDa corresponding to ER. No labelling of COS cells transfected with plasmid containing a deleted mutant with missing sequences encoding for the A/B region of ER was observed (7). As demonstrated by immunocytochemistry, the antibody reacts with the ER α -equivalent protein in rat (8).
Precautions	1. For professional users. 2. This product contains sodium azide (NaN ₃), 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. 3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. 4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. 5. 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 conditions must be verified by the user. 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 Services.
Specimen preparation	<u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of tissues with heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, pH 9.0, code S2368, or Dako Target Retrieval Solution, High pH, code S3308. Less optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, code S1700, or 10 mmol/L citrate, pH 6.0. Pre-treatment of tissues with Dako Proteinase K, code S3020, was found inefficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunocytochemical staining procedure. <u>Frozen sections and cell preparations:</u> The antibody can be used for labelling frozen sections (7).
Staining procedure	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor α , code M7047, may be used at a dilution of 1:35 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human breast carcinoma and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval Solution, pH 9.0, code S2368, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined by each individual laboratory. The recommended negative control is Dako Mouse IgG1, code X0931, 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. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimen. <u>Visualization:</u> Dako LSAB™+/HRP kit, code K0679, and Dako EnVision™+/HRP kits, codes K4004 and K4006, are recommended for frozen sections and cell preparations, the Dako APAAP kit, code K0670, is a good alternative if endogenous peroxidase staining is a concern. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit. <u>Automation:</u> The antibody is well-suited for immunocytochemical staining using automated platforms, such as the Dako Autostainer
Staining interpretation	Cells labelled by the antibody display a nuclear staining pattern. Cytoplasmic labelling, if observed, should be regarded non-specific. In relation to tissues from human breast carcinomas, a variety of staining scales for ER-positivity has been reported in the literature. For example, staining results have been reported using either the percentage of positive cells or a staining intensity scale, or using the staining intensity scale in conjunction with the percentage of positive cells (H score) (2, 5, 6). A detailed description of different scoring systems is found in (6).

(104482-003)

M7047/EFG/KRM/2008.09.30 p. 1/4

Product specific limitations	1. Wash buffers containing high levels of detergent can decrease the staining intensity. 2. Occasional lymphoid tumours and non-lymphoid neoplasms such as melanomas are labelled.
Performance characteristics	<u>Normal tissues:</u> The antibody has been tested on a large range of normal tissues. Positive labelling was observed in the mammary gland, cervix uteri (squamous epithelium), uterus (endometrium) and prostate (cytoplasm of the fibromuscular stroma). <u>Abnormal tissues:</u> Numerous studies on formalin-fixed, paraffin-embedded breast cancer tissue sections have shown Anti-ER α , Clone 1D5, to be reliable and effective for the demonstration of ER α status (1, 2, 5, 6). The antibody also provides accurate prognostic information regarding response to endocrine therapies (2, 5, 6). Sensitivity data of 90% (2) and 89% (5), and specificity data of 51% (2) and 73% (5) have been reported when antibody labelling was compared with response to tamoxifen therapy. In (2), an H-score method with an arbitrary cut-off for positivity of 50 was used, while in (5) a cut-off point of 10% positive cells was used.








FRANÇAIS	
Intérêt	Pour diagnostic <i>in vitro</i> . Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor α , Clone 1D5, est destiné à l'immunohistochimie. L'anticorps marque les cellules positives au récepteur α -oestrogénique et il sert à évaluer le statut de ce récepteur oestrogénique α dans les cancers du sein humains (1-3). 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.
Résumé et explication	Les récepteurs des hormones stéroïdes montrent une forte affinité et une haute spécificité pour leurs ligands. Le récepteur oestrogénique (ER) humain existe sous deux formes, ER α et ER β . Les récepteurs présentent une grande homologie dans leurs domaines de liaison à l'ADN et au ligand et ils peuvent former des hétérodimères. Cependant, les deux ER se manifestent de manière différente ; à titre d'exemple, ER β ne potentialise pas le facteur de transcription nucléaire AP-1 lorsqu'il est complexé à l'oestradiol, contrairement à ER α . Cela permet de penser qu'ER α et ER β peuvent jouer des rôles différents dans la régulation génétique et que leurs concentrations relatives dans les tissus peuvent influencer la réponse cellulaire aux oestrogènes (3,4). Dans le cancer du sein, la mesure d'ER α est généralement considérée comme utile car la présence de ce récepteur est liée à une meilleure survie globale et à une réponse favorable au traitement endocrinien (2, 3, 5, 6).
Réactif fourni	Anticorps monoclonal de souris à l'état liquide sous forme de surnageant de culture cellulaire, obtenu par dialyse contre une solution Tris/HCl à 0,05 mol/L, à pH 7,2 et contenant 15 mmol/L de NaN ₃ . <u>Clone :</u> 1D5 (7). <u>Isotype :</u> IgG1, kappa. <u>Concentration en IgG de souris :</u> se reporter à l'étiquette sur le flacon. 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.
Immunogène	Récepteur oestrogénique humain recombinant soluble (7).
Spécificité	L'anticorps réagit spécifiquement avec ER α et ne présente pas de réaction avec ER β (8, 9). L'épitope est situé sur le domaine N-terminal (région A/B) d'ER α . En immunobuvardage de type Western utilisant des extraits protéiques de cellules COS transfectées avec un vecteur plasmidique exprimant ER, la lignée de cellules de cancer du sein humain MCF-7 et du tissu endométrial humain, l'anticorps marque un polypeptide d'environ 67 kDa correspondant au récepteur oestrogénique. Il n'a été observé aucun marquage de cellules COS transfectées avec un plasmide contenant un mutant ayant subi une délétion avec des séquences codant pour la région A/B de l'ER manquantes. Comme le montre l'immunocytochimie, l'anticorps présente des réactions avec les protéines équivalentes à ER α chez le rat.
Précautions d'emploi	1. Pour utilisateurs professionnels. 2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN ₃), un agent chimique extrêmement toxique à l'état pur. Bien qu'il ne soit pas classé comme dangereux aux concentrations présentes dans le produit, l'azide de sodium est susceptible de réagir avec les parties en plomb et en cuivre des tuyauteries pour former des azides métalliques extrêmement explosifs. Lors de l'élimination des réactifs, rincer avec de grandes quantités d'eau pour éviter toute accumulation d'azides métallisés dans la tuyauterie. 3. Comme pour tout dérivé d'origine biologique, sa manipulation doit être précise. 4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau. 5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.
Conservation	Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs ont été conservés dans des conditions autres que celles qui sont préconisées, les conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Aucun signe visible n'indique l'instabilité du produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être opérés simultanément avec les échantillons du patient. En cas de résultats imprévus qui ne peuvent pas être expliqués par des changements de procédures de laboratoire et si un problème avec le produit est suspecté, contacter Dako Services Techniques.
Préparation de l'échantillon	<u>Coupes en paraffine :</u> L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Un prétraitement des tissus par restauration de l'épitope par la chaleur est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus avec Dako Target Retrieval Solution, pH 9,0, code S2368, ou Dako Target Retrieval Solution, High pH, code S3308. Des résultats moins optimaux sont obtenus avec Dako Target Retrieval Solution, code S1700, ou avec du citrate à 10 mmol/L, pH 6,0. Le prétraitement des tissus avec Dako Proteinase K, code S3020, s'est révélé inefficace. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure de marquage immunocytochimique qui suit. <u>Coupes congelées et préparations cellulaires :</u> L'anticorps peut être utilisé pour le marquage de coupes congelées (7).
Procédure d'immunomarquage	<u>Dilution :</u> Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor α , code M7047, peut être dilué à 1:35 pour utilisation sur coupes de cancer du sein humain incluses en paraffine, fixées au formol, avec restauration de l'épitope par la chaleur pendant 20 minutes dans Dako Target Retrieval Solution, pH 9,0, code S2368, et 30 minutes d'incubation à température ambiante avec l'anticorps primaire. Les conditions optimales peuvent varier selon l'échantillon et la méthode de préparation, et elles doivent être définies par chaque laboratoire. Le contrôle négatif recommandé est Dako Mouse IgG1, code X0931, dilué à la même concentration en IgG1 de souris que l'anticorps primaire. Si la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'a pas été établie au cours de cette procédure de marquage, il est recommandé de diluer le produit juste avant son usage ou de diluer dans Dako Antibody Diluent, code S0809. Des contrôles positifs et négatifs doivent être traités simultanément avec les échantillons des patients. <u>Révélation :</u> Dako LSAB™+/HRP kit, code K0679, et les troussees Dako EnVision™+/HRP, codes K4004 et K4006, sont recommandés. Pour les coupes congelées et les préparations cellulaires, la trousse Dako APAAP, code K0670, constitue une bonne alternative si le marquage de la peroxydase endogène est à craindre. Suivre la procédure indiquée sur la notice de la trousse de révélation choisie.

(104482-003)

M7047/EFG/KRM/2008.09.30 p. 2/4








	Automatisation : L'anticorps est bien adapté au marquage immunocytochimique sur des plates-formes automatisées comme le Dako Autostainer.
Interprétation de la coloration	Les cellules marquées pas l'anticorps montrent un profil de coloration nucléaire. Tout marquage cytoplasmique observé doit être considéré comme non spécifique. En ce qui concerne les tissus de cancers du sein humain, différentes échelles de coloration pour la positivité à ER ont été mentionnées dans la littérature. A titre d'exemple, les résultats de l'immunomarquage ont été indiqués soit en pourcentage de cellules positives, soit en utilisant une échelle d'intensité de la coloration, soit à l'aide d'une échelle d'intensité de la coloration associée au pourcentage de cellules positives (score H) (2, 5, 6). Se reporter à la référence (6) pour une description détaillée des différents systèmes de cotation.
Limites spécifiques au produit	1. Les tampons de lavage à forte teneur en détergent peuvent diminuer l'intensité de la coloration. 2. Dans de rares cas, des tumeurs lymphoïdes et des néoplasmes non lymphoïdes tels que des mélanomes sont marqués.
Performances	Tissus normaux : L'anticorps a été testé sur une grande variété de tissus normaux. Un marquage positif a été observé sur la glande mammaire, le col de l'utérus (épithélium pavimenteux), l'utérus (endomètre) et la prostate (cytoplasme du stroma fibromusculaire). Tissus anormaux : De nombreuses études sur des coupes de tissus de cancer du sein incluses en paraffine, fixées au formol, ont montré qu'Anti-ERα, Clone 1D5, était fiable et efficace pour révéler le statut d'ERα (1, 2, 5, 6). L'anticorps apporte également des informations de pronostic exactes en ce qui concerne la réponse aux traitements endocriniens (2, 5, 6). Des résultats de sensibilité de 90 % (2) et 89 % (5) et de spécificité de 51 % (2) et 73 % (5) ont été rapportés lorsque le marquage par anticorps était comparé à la réponse au traitement par tamoxifène. Dans (2), une méthode par score H avec un seuil arbitraire de 50 pour la positivité a été utilisée, tandis que dans (5), on a appliqué un seuil de 10 % de cellules positives.

DEUTSCH	
Zweckbestimmung	Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen. Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor α, Clone 1D5, ist für den immunhistochemischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper markiert Östrogenrezeptor α-positive Zellen und ist nützlich bei der Untersuchung des Östrogenrezeptor α-Status beim menschlichen Mammakarzinom. (1-3). Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden 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.
Zusammenfassung und Erklärung	Steroidhormonrezeptoren weisen eine hohe Affinität und Spezifität für ihre Liganden auf. Der menschliche Östrogenrezeptor (ER) liegt in zwei Formen vor, ERα und ERβ. Die Rezeptoren zeigen eine starke Homologie bezüglich ihrer DNA- und Ligandenbindungsdomänen und können Heterodimere formen. Die beiden ERs signalisieren jedoch in unterschiedlicher Weise; ERβ transaktiviert z.B. bei Komplexierung mit Östradiol den nuklearen Transkriptionsfaktor AP-1 nicht, während ERα dazu in der Lage ist. Daraus kann geschlossen werden, dass ERα und ERβ unterschiedliche Rollen bei der Genregulierung spielen und dass die relativen Gewebespiegel zelluläre Antworten auf Östrogene beeinflussen (3,4). Beim Mammakarzinom ist grundsätzlich die Bestimmung des ERα-Status als hilfreich anerkannt, weil die Anwesenheit von ERα mit einer insgesamt verbesserten Überlebensrate und einer besseren Antwort auf endokrine Therapie korreliert (2,3,5,6).
Geliefertes Reagenz	Der monoklonale Mausantikörper wird in flüssiger Form als Zellkulturüberstand geliefert, wurde gegen 0,05 mol/L Tris/HCl, pH-Wert 7,2 dialysiert und enthält 15 mmol/L NaN ₃ . Klon : 1D5 (7). Isotyp : IgG1, Kappa. Maus-IgG-Konzentration : Siehe Fläschchenetikett. Die Proteinkonzentration kann bei den Chargen verschieden ausfallen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer wird bei jeder einzelnen Charge mit einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färbeergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.
Immunogen	Löslicher, rekombinanter humaner Östrogenrezeptor (7).
Spezifität	Der Antikörper reagiert spezifisch mit ERα und zeigt keine Reaktion mit ERβ (8, 9). Das Epitop ist in der N-terminalen Domäne (A/B Region) von ERα lokalisiert. Beim Western-Immunblot, bei dem Proteinextrakte aus COS Zellen benutzt werden, die mit einem Plasmid-Vektor transfektiert wurden, der sowohl ER, die humane Brustkrebs-Zelllinie MCF-7 und humanes endometriales Gewebe exprimiert, markiert der Antikörper ein Polypeptid von ca. 67 kDa, ähnlich dem ER. Eine Markierung von mit Plasmid transfektierten COS-Zellen, die eine zerstörte Mutante mit fehlenden, für die A/B Region des ER kodierenden Sequenzen enthalten, wurde nicht beobachtet (7). Immunzytochemisch wurde nachgewiesen, dass der Antikörper mit dem zu ERα äquivalenten Protein der Ratte reagiert (8).
Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen	1. Für geschultes Fachpersonal. 2. Dieses Produkt enthält Natrium-Azid (NaN ₃), eine in reiner Form hoch toxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natrium-Azid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in WAbflussrohren enthaltenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metall-Azid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung in den Abflussrohren zu vermeiden. 3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden. 4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden. 5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.
Lagerung	Bei 2 – 8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Fläschchen angegebenen Verfallsdatum verwenden. Sollten die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt worden sein, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für eine Instabilität dieses Produktes. Daher sollten die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Wenn unerwartete Verfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit Dako technischen Kundendienst aufzunehmen.
Probenvorbereitung	Paraffinschnitte : Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, formalinfixierten histologischen Schnitten genutzt werden. Eine Vorbehandlung der Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Resultate werden mit Dako Target Retrieval Solution, pH 9,0, Code-Nr. S2368 oder Dako Target Retrieval Solution, High pH, Code-Nr. S3308 erzielt. Bei Verwendung von Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700 oder 10 mmol/l Citratpuffer, pH 6,0, sind die Resultate weniger optimal. Die Vorbehandlung der Gewebe mit Dako Proteinase K, Code Nr. S3020, hat sich als ineffizient erwiesen. Während der Gewebevorbehandlung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen Färbeprozedur dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen. Gefrierschnitte und zytologische Präparate : Der Antikörper kann zur Markierung von Gefrierschnitten verwendet werden (7).

	Färbeprozedur	Verdünnung : Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor α, Code Nr. M7047, kann als 1:35-Verdünnung verwendet werden, wenn es auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten des menschlichen Mammakarzinoms aufgebracht wird und eine 20minütige hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit Dako Target Retrieval Solution, pH 9,0, Code-Nr. S2368, gefolgt von 30 Minuten Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur, durchgeführt wird. Die optimalen Bedingungen schwanken je nach Probe und Methode der Probenvorbereitung und sollten von jedem einzelnen Labor bestimmt werden. Die empfohlene Negativkontrolle ist Dako Mouse IgG1, Code-Nr. X0931, das auf dieselbe murine IgG-Konzentration wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Solange mit dem eigentlichen Testsystem die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle nicht sichergestellt ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor Gebrauch zu verdünnen oder die Verdünnung mit Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, vorzunehmen. Positiv- und Negativkontrollen sollten gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Visualisierung : Dako LSAB™+/HRP-Kit, Code-Nr. K0679 und Dako EnVision™+/HRP-Kits, Code-Nr. K4004 und K4006 werden empfohlen. Falls bei Gefrierschnitten und Zellpräparaten Probleme mit endogener Peroxidasefärbung auftreten, bietet der Dako APAAP Kit, Code-Nr. K0670, eine gute Alternative. Es ist dem Verfahren zu folgen, das in den Anleitungen zum ausgewählten Visualisierungskit erläutert wird. Automatisierung : Der Antikörper ist gut für das immunzytochemische Färben unter Nutzung automatisierter Plattformen wie beispielsweise des „Autostainer“ von Dako geeignet.	
	Auswertung der Färbung	Durch den Antikörper markierte Zellen zeigen ein nukleares Färbemuster. Eine beobachtete zytoplasmatische Markierung sollte als nicht spezifisch angesehen werden. In Verbindung mit humanen Mammakarzinomgeweben wird in der Literatur eine Vielzahl von Färbungsskalen für die ER-Positivität beschrieben. Färbungsergebnisse wurden z.B. entweder auf der Basis des Prozentsatzes der positiven Zellen mithilfe einer Färbungsintensitätsskala oder durch Verwendung der Färbungsintensitätsskala in Verbindung mit dem Prozentsatz positiver Zellen angegeben (H score) (2,5,6). Detaillierte Angaben über unterschiedliche Auswertungssysteme sind in (6) zu finden.	
	Produktspezifische Beschränkungen	1. Waschpuffer mit hohen Detergenzkonzentrationen können die Farbintensität vermindern. 2. Gelegentlich werden lymphoide Tumoren und nicht-lymphoide Neoplasmen wie z.B. Melanome markiert.	
	Leistungseigenschaften	Normalgewebe : Der Antikörper wurde in einem weiten Bereich normaler Gewebe getestet. Positive Markierung wurde in der Brustdrüse, im Cervix uteri, (squamöses Epithel), im Uterus (Endometrium) und in der Prostata (Zytoplasma des fibromuskularen Stromas) beobachtet. Anomales Gewebe : In zahlreichen Studien mit formalinfixierten, paraffineingebetteten Brustkrebs-Gewebeschnitten konnte gezeigt werden, das Anti-ERα, Klon 1D5 zum Nachweis des ERα-Status verlässlich und effektiv ist (1, 2, 5, 6). Durch den Antikörper erhält man ebenfalls akkurate prognostische Information bzgl. einer Antwort auf endokrine Therapien (2, 5, 6). Bei einem Vergleich der Antikörpermarkierung mit Tamoxifentherapie wurden Sensitivitätsdaten von 90% (2) und 89% (5) sowie Spezifitätsdaten von 51% und 73% (5) berichtet. In (2) wurde eine H-Score-Methode mit einem willkürlichen Cut-Off-Wert für Positivität von 50 benutzt, während der Cut-Off-Punkt in (5) bei 10% positiver Zellen lag.	
	References/ Références/ Literatur		
		<ol style="list-style-type: none">Mauri FA, Veronese S, Frigo B, Girlando S, Losi L, Gambacorta M, et al. ER1D5 and H222 (ER-ICA) antibodies to human estrogen receptor protein in breast carcinomas. Appl Immunohistochem 1994;2:157-63. Goulding H, Pinder S, Cannon P, Pearson D, Nicholson R, Snead D, et al. A new immunohistochemical antibody for the assessment of estrogen receptor status on routine formalin-fixed tissue samples. Hum Pathol 1995;26:291-4. Shaw JA, Udokang K, Mosquera J-M, Chauhan H, Jones JL, Walker RA. Oestrogen receptors alpha and beta differ in normal human breast and breast carcinomas. J Pathol 2002;198:450-7. Marayama S, Fujimoto N, Asano K, Ito A. Suppression by estrogen receptor beta of AP-1 mediated transactivation through estrogen receptor alpha. J Steroid Biochem Mol Biol 2001;78:177-84. Pertschuk LP, Feldman JG, Kim Y-D, Braithwaite L, Schneider F, Braverman AS, et al. Estrogen receptor immunocytochemistry in paraffin embedded tissues with ER1D5 predicts breast cancer endocrine response more accurately than H222Spy in frozen sections or cytosol-based ligand-binding assays. Cancer 1996;77:2514-9. Barnes DM, Harris WH, Smith P, Millis RR, Rubens RD. Immunohistochemical determination of oestrogen receptor: comparison of different methods of assessment of staining and correlation with clinical outcome of breast cancer patients. Br J Cancer 1996;74:1445-51. Al Saati T, Clamens S, Cohen-Knafo E, Faye JC, Prats H, Coindre JM, et al. Production of monoclonal antibodies to human estrogen-receptor protein (ER) using recombinant ER (RER). Int J Cancer 1993;55: 651-4. Nishihara E, Nagayama Y, Inoue S, Hiroi H, Muramatsu M, Yamashita S, et al. Ontogenetic changes in the expression of estrogen receptor α and β in rat pituitary gland detected by immunohistochemistry. Endocrinology 2000;141:615-20. Pettersson K, Grandien K, Kuiper GGJM, Gustafsson J-Å. Mouse estrogen receptor β forms estrogen response element-binding heterodimers with estrogen receptor α. Mol Endocrinol 1997;11:1486-96.	
	Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole		
	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Manufacturer Fabricant Hersteller
	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis	

(104482-003)	M7047/EFG/KRM/2008.09.30 p. 3/4	(104482-003)	M7047/EFG/KRM/2008.09.30 p. 4/4
--------------	---------------------------------	--------------	---------------------------------

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

	Färbeprozedur	Verdünnung : Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor α, Code Nr. M7047, kann als 1:35-Verdünnung verwendet werden, wenn es auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten des menschlichen Mammakarzinoms aufgebracht wird und eine 20minütige hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit Dako Target Retrieval Solution, pH 9,0, Code-Nr. S2368, gefolgt von 30 Minuten Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur, durchgeführt wird. Die optimalen Bedingungen schwanken je nach Probe und Methode der Probenvorbereitung und sollten von jedem einzelnen Labor bestimmt werden. Die empfohlene Negativkontrolle ist Dako Mouse IgG1, Code-Nr. X0931, das auf dieselbe murine IgG-Konzentration wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Solange mit dem eigentlichen Testsystem die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle nicht sichergestellt ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor Gebrauch zu verdünnen oder die Verdünnung mit Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, vorzunehmen. Positiv- und Negativkontrollen sollten gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Visualisierung : Dako LSAB™+/HRP-Kit, Code-Nr. K0679 und Dako EnVision™+/HRP-Kits, Code-Nr. K4004 und K4006 werden empfohlen. Falls bei Gefrierschnitten und Zellpräparaten Probleme mit endogener Peroxidasefärbung auftreten, bietet der Dako APAAP Kit, Code-Nr. K0670, eine gute Alternative. Es ist dem Verfahren zu folgen, das in den Anleitungen zum ausgewählten Visualisierungskit erläutert wird. Automatisierung : Der Antikörper ist gut für das immunzytochemische Färben unter Nutzung automatisierter Plattformen wie beispielsweise des „Autostainer“ von Dako geeignet.	
	Auswertung der Färbung	Durch den Antikörper markierte Zellen zeigen ein nukleares Färbemuster. Eine beobachtete zytoplasmatische Markierung sollte als nicht spezifisch angesehen werden. In Verbindung mit humanen Mammakarzinomgeweben wird in der Literatur eine Vielzahl von Färbungsskalen für die ER-Positivität beschrieben. Färbungsergebnisse wurden z.B. entweder auf der Basis des Prozentsatzes der positiven Zellen mithilfe einer Färbungsintensitätsskala oder durch Verwendung der Färbungsintensitätsskala in Verbindung mit dem Prozentsatz positiver Zellen angegeben (H score) (2,5,6). Detaillierte Angaben über unterschiedliche Auswertungssysteme sind in (6) zu finden.	
	Produktspezifische Beschränkungen	1. Waschpuffer mit hohen Detergenzkonzentrationen können die Farbintensität vermindern. 2. Gelegentlich werden lymphoide Tumoren und nicht-lymphoide Neoplasmen wie z.B. Melanome markiert.	
	Leistungseigenschaften	Normalgewebe : Der Antikörper wurde in einem weiten Bereich normaler Gewebe getestet. Positive Markierung wurde in der Brustdrüse, im Cervix uteri, (squamöses Epithel), im Uterus (Endometrium) und in der Prostata (Zytoplasma des fibromuskularen Stromas) beobachtet. Anomales Gewebe : In zahlreichen Studien mit formalinfixierten, paraffineingebetteten Brustkrebs-Gewebeschnitten konnte gezeigt werden, das Anti-ERα, Klon 1D5 zum Nachweis des ERα-Status verlässlich und effektiv ist (1, 2, 5, 6). Durch den Antikörper erhält man ebenfalls akkurate prognostische Information bzgl. einer Antwort auf endokrine Therapien (2, 5, 6). Bei einem Vergleich der Antikörpermarkierung mit Tamoxifentherapie wurden Sensitivitätsdaten von 90% (2) und 89% (5) sowie Spezifitätsdaten von 51% und 73% (5) berichtet. In (2) wurde eine H-Score-Methode mit einem willkürlichen Cut-Off-Wert für Positivität von 50 benutzt, während der Cut-Off-Punkt in (5) bei 10% positiver Zellen lag.	
	References/ Références/ Literatur		
		<ol style="list-style-type: none">Mauri FA, Veronese S, Frigo B, Girlando S, Losi L, Gambacorta M, et al. ER1D5 and H222 (ER-ICA) antibodies to human estrogen receptor protein in breast carcinomas. Appl Immunohistochem 1994;2:157-63. Goulding H, Pinder S, Cannon P, Pearson D, Nicholson R, Snead D, et al. A new immunohistochemical antibody for the assessment of estrogen receptor status on routine formalin-fixed tissue samples. Hum Pathol 1995;26:291-4. Shaw JA, Udokang K, Mosquera J-M, Chauhan H, Jones JL, Walker RA. Oestrogen receptors alpha and beta differ in normal human breast and breast carcinomas. J Pathol 2002;198:450-7. Marayama S, Fujimoto N, Asano K, Ito A. Suppression by estrogen receptor beta of AP-1 mediated transactivation through estrogen receptor alpha. J Steroid Biochem Mol Biol 2001;78:177-84. Pertschuk LP, Feldman JG, Kim Y-D, Braithwaite L, Schneider F, Braverman AS, et al. Estrogen receptor immunocytochemistry in paraffin embedded tissues with ER1D5 predicts breast cancer endocrine response more accurately than H222Spy in frozen sections or cytosol-based ligand-binding assays. Cancer 1996;77:2514-9. Barnes DM, Harris WH, Smith P, Millis RR, Rubens RD. Immunohistochemical determination of oestrogen receptor: comparison of different methods of assessment of staining and correlation with clinical outcome of breast cancer patients. Br J Cancer 1996;74:1445-51. Al Saati T, Clamens S, Cohen-Knafo E, Faye JC, Prats H, Coindre JM, et al. Production of monoclonal antibodies to human estrogen-receptor protein (ER) using recombinant ER (RER). Int J Cancer 1993;55: 651-4. Nishihara E, Nagayama Y, Inoue S, Hiroi H, Muramatsu M, Yamashita S, et al. Ontogenetic changes in the expression of estrogen receptor α and β in rat pituitary gland detected by immunohistochemistry. Endocrinology 2000;141:615-20. Pettersson K, Grandien K, Kuiper GGJM, Gustafsson J-Å. Mouse estrogen receptor β forms estrogen response element-binding heterodimers with estrogen receptor α. Mol Endocrinol 1997;11:1486-96.	
	Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole		
	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Manufacturer Fabricant Hersteller
	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis	

(104482-003)	M7047/EFG/KRM/2008.09.30 p. 3/4	(104482-003)	M7047/EFG/KRM/2008.09.30 p. 4/4
--------------	---------------------------------	--------------	---------------------------------

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17