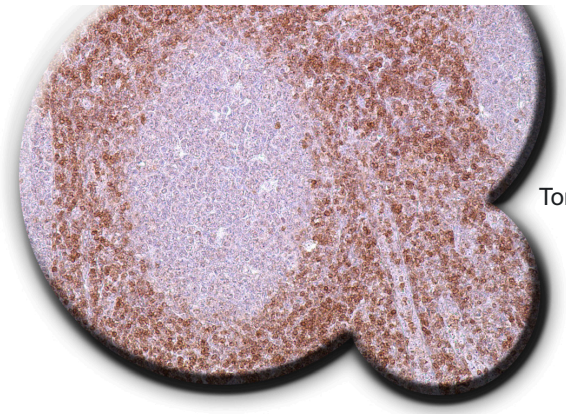
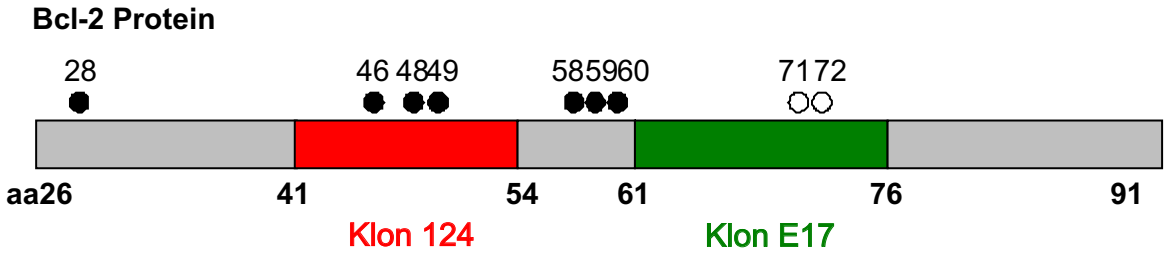


Tonsille

follikuläres Lymphom

Follikuläre Lymphome:

Bcl-2 „pseudo-negativ“?



- ● ***„Missense“* Mutation** (nicht-synonyme Mutation)
- ○ **Stille/synonyme Mutation** (kein Aminosäureaustausch)

Masir *et al.* (2009) haben einige Mutationen im translozierten BCL2-Gen beschrieben, welche die Bindung bestimmter monoklonaler Bcl-2-Antikörper an ihr Epitop verhindern können und somit zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Man spricht hier von ***„pseudo-negativen“*** Fällen, da sie mit dem Bcl-2-Antikörper, Klon 124 negativ, jedoch mit dem (Kaninchen-)Klon E17 (1) oder SP66 positiv sind.

Nach der für follikuläre Lymphome charakteristischen **t(14;18) chromosomalen Translokation** (IgH Gen-*Enhancer* stimuliert die Expression des Bcl-2-Oncoproteins) können somatische Mutationen das BCL2-Gen im Bereich der Aminosäuren aa41-54 so verändern, dass der (Maus-)Klon 124 sein spezifisches Epitop nicht mehr erkennt. Von diesen Mutationen ist der (Kaninchen-)Klon E17 nicht betroffen, da seine Bindungsstelle weiter C-terminal im Bereich der Aminosäuren aa61-76 liegt. Die Autoren empfehlen daher, alle negativen Fälle mit dem monoklonalen Kaninchenantikörper E17 nachzutesten (1, 2).
Es hat sich gezeigt, dass auch die Bindung des monoklonalen Bcl-2-Antikörpers SP66 (Kaninchen) durch evtl. Missensemutationen im BCL2-Gen unbeeinträchtigt bleiben.

Bei medac sind alle oben genannten Bcl-2-Antikörper erhältlich. Ringversuche haben gezeigt, dass nicht nur Mutationen im BCL2-Gen, sondern auch suboptimale IHC-Protokolle für falsch negative Ergebnisse verantwortlich sein können (3).

medac
Gesellschaft für klinische Spezialpräparate mbH • GE Diagnostika • Theaterstrasse 6 • D-22880 Wedel
Telefon 04103/8006-342 • Fax 04103/8006-359 • www.medac-diagnostika.de • diagnostika@medac.de

Die häufigsten Ursachen für unzureichende Bcl-2-Immunfärbungen waren eine zu hohe Verdünnung des Klons 124, der Einsatz vorverdünnter Versionen dieses Klons auf bestimmten Immunfärbeautomaten, sowie eine **zu geringe Sensitivität in Folge einer Antigendemaskierung mit Citratpuffer pH6.** Empfohlen wird eine Hitzevorbehandlung (>95°C, 15-20 min) in einem Tris/EDTA-Puffer mit einem pH-Wert von 8 oder 9 (z.B. Cell Marque *Trilogy*™ Puffer, Best.-Nr. 920P-0), die einen höher sensitiven Bcl-2-Nachweis gewährleistet (3).

Bei nicht optimaler Gewebevorbehandlung muss der Klon 124 in recht hoher Konzentration eingesetzt werden, um akzeptable Färbeergebnisse zu erzielen (3). Interessanterweise kam in Ref. 1 für den Klon 124 eine nicht optimale Hitzevorbehandlung (Citratpuffer pH6) zum Einsatz.

Bestell-Information Bcl-2, Klon 124 (Maus)

verfügbare Größen:	**Kat.-Nr.**
0,1 ml konzentriert	226M-94
0,5 ml konzentriert	226M-95
1,0 ml konzentriert	226M-96
1,0 ml gebrauchsfertig	226M-97
7,0 ml gebrauchsfertig	226M-98
5 Positivkontrollschnitte	226S

Tel. 04103/8006-111

IVD CE

Bestell-Information Bcl-2, Klon E17 (Kaninchen)

verfügbare Größen:	**Kat.-Nr.**
0,1 ml konzentriert	226R-14
0,5 ml konzentriert	226R-15
1,0 ml konzentriert	226R-16
1,0 ml gebrauchsfertig	226R-17
7,0 ml gebrauchsfertig	226R-18
5 Positivkontrollschnitte	226S

Tel. 04103/8006-111

IVD CE

Bestell-Information Bcl-2, Klon SP66 (Kaninchen)

verfügbare Größen:	**Kat.-Nr.**
0,1 ml konzentriert	226R-24
0,5 ml konzentriert	226R-25
1,0 ml konzentriert	226R-26
1,0 ml gebrauchsfertig	226R-27
7,0 ml gebrauchsfertig	226R-28
5 Positivkontrollschnitte	226S

Tel. 04103/8006-111

IVD CE

Referenzen:

1. Masir N *et al.* BCL2 protein expression in follicular lymphomas with t(14;18) chromosomal translocations. Br J Haematol 2009;144:716-725.
2. Masir N *et al.* Pseudonegative BCL2 protein expression in a t(14;18) translocation positive lymphoma cell line: a need for an alternative BCL2 antibody. Pathology 2010;42:212-216.
3. http://www.nordiqc.org/Run-28/Assessment/assessment-28-BCL2.htm; NordiQC Ringversuch Bcl-2.

Gesellschaft für klinische Spezialpräparate mbH • GE Diagnostika • Theaterstrasse 6 • D-22880 Wedel
Telefon 04103/8006-342 • Fax 04103/8006-359 • www.medac-diagnostika.de • diagnostika@medac.de