

**Monoclonal Mouse
Anti-Human Melan-A
Clone A103****Code M7196****ENGLISH****Intended use**

For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, Clone A103, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels melanocytes and is a useful aid for the classification of melanomas (1, 2), adrenocortical carcinomas (3, 4) and angiomyolipomas (5). Differential classification 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.

Synonyms

MART-1 (1).

Summary and explanation

Melan-A, isolated as a melanoma-specific antigen, is a transmembrane protein composed of 118 amino acids with uncertain function (1). The *Melan-A* gene was cloned from a human melanoma cell line, and its expression on melanomas is recognized by autologous cytotoxic T cells (6). Melan-A is expressed in skin, retina and the majority of cultured melanocytes and melanomas, whereas a vast variety of other tissues and cancers tested do not express Melan-A (1, 6, 7). However, Melan-A may be found expressed in angiomyolipomas (5). Along with Melan-A, seven other melanoma antigens have been identified: MAGE-1, MAGE-3, tyrosinase, gp100, gp75, BAGE-1 and GAGE-1, which are all recognized by autologous cytotoxic T cells (1).

Refer to *Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining* 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.

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 Na₂S₂O₃.

Clone: A103 (1). Isotype: IgG1, kappa.

Mouse IgG concentration: 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

Recombinant protein expressed in *E. coli* corresponding to Melan-A (1).

Specificity

In Western blotting of cell lysates from Melan-A mRNA positive cell lines, the antibody labels a protein doublet of 20-22 kDa, whereas no labeling is detected in Melan-A mRNA-negative cell lines (1).

In immunoprecipitates of Melan-A-positive cell lines SK-MEL-13 and SK-MEL-19, the antibody labels a protein doublet of 20-22 kDa corresponding to Melan-A, whereas no precipitation is detected in Melan-A mRNA-negative melanoma cell lines (1).

Precautions

1. For in vitro diagnostic use.
2. For professional users.
3. This product contains sodium azide (Na₂N₃), 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.
4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
6. 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 Support.

Specimen preparation

Paraffin sections: The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. The following solutions Dako Target Retrieval Solution, Code S1700 and 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0 or 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. 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.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labeling acetone-fixed, frozen sections and cell preparations (1). The user must validate the staining procedure.

Staining procedure

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.

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, Code M7196, may be used at a dilution range of 1:25-1:50 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human malignant melanoma and using 20 minutes heat-induced 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 IgG1, Code X0931, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody.

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.

Product-specific limitations

Due to nonspecific immunoreactivity, the antibody has been reported to label adrenal cortex, adrenocortical adenomas, primary and metastatic adrenocortical carcinomas (ACC), angiomyolipomas (AML) (5), Leydig cells and Leydig tumors of the testis and granulosa and theca cells of the ovary as well as Sertoli-Leydig cell tumors of the ovary (2, 3).

Using 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0 for heat-induced epitope retrieval, the antibody may display background staining in single cells of the kidney.

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display a cytoplasmic staining pattern (1).

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody labels skin, whereas stomach, colon, lung, liver, spleen, kidney, testis, urinary bladder, breast, ovary, smooth muscle and adipose tissues are not labeled by the antibody (1, 5). The steroid-producing cells of adrenal cortex, ovary and testis have been reported to be labeled by the antibody (2). See also product-specific limitations.

Abnormal tissues: In metastatic melanomas 16/21 cases were labeled by the antibody, showing homogeneous, cytoplasmic staining in >80-90% of melanoma cells, except one which displayed focal staining (1). In another study of 10 benign melanocytic nevi, 10 primary melanomas and 75 metastatic melanomas, the antibody labeled 10/10 benign melanocytic nevi, 7/10 primary melanomas and 61/75 metastatic melanomas (2).

Among 111 carcinomas, mainly adenocarcinomas and squamous cell carcinomas, 40 germ cell tumors and 33 miscellaneous non-melanocytic epithelioid tumors, none were labeled by the antibody. The antibody labeled 5/5 adrenal cortical adenomas, 16/16 primary and 13/13 metastatic adrenal cortical carcinomas, and also 4/4 Leydig cell tumors of the testis and 3/4 Sertoli-Leydig cell tumors of the ovary were labeled by the antibody (3). In another study of 316 cases, including 21 adrenal cortical tumors, 16 metastatic carcinomas to the adrenal, 10 pheochromocytomas, and 269 extra-adrenal carcinomas, the antibody labeled 14/14 adrenal cortical adenomas, 7/7 adrenal cortical carcinomas, 0/16 metastatic carcinomas to the adrenal and 0/10 pheochromocytomas. Of the 269 extra-adrenal carcinomas, a single ovarian serous carcinoma was labeled (4).

In a study of 18 angiomyolipomas, all 18 were labeled by the antibody (5). In another report all three angiomyolipomas tested were labeled by the antibody (2).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, Clone A103, est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). L'anticorps marque les mélanocytes et constitue une aide utile pour la classification des mélanomes (1, 2), des carcinomes corticosurrénaux (3, 4) et des angiomyolipomes (5). La classification différentielle 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 histo-chimiques non immunologiques.

Synonymes

MART-1 (1).

Résumé et explication

Le Melan-A, isolé en tant qu'antigène spécifique des mélanomes, est une protéine transmembranaire constituée de 118 acides aminés dont la fonction est incertaine (1). Le gène *Melan-A* a été cloné à partir d'une lignée cellulaire de mélanome humain, et son expression sur les mélanomes est reconnue par les lymphocytes T cytotoxiques autologues (6). Le Melan-A est exprimé dans la peau, la rétine et la majorité des mélanocytes et mélanomes mis en culture, tandis qu'une grande variété d'autres tissus et de cancers testés n'expriment pas le Melan-A (1, 6, 7). Cependant, le Melan-A peut être exprimé dans les angiomyolipomes (5). Outre le Melan-A, sept autres antigènes des mélanomes ont été identifiés : MAGE-1, MAGE-3, tyrosinase, gp100, gp75, BAGE-1 et GAGE-1, qui sont tous reconnus par les lymphocytes T cytotoxiques autologues (1).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohisto-chimique) de Dako ou les instructions du kit 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.

Réactif fourni

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).

Clone : A103 (1). **Isotype :** IgG1, kappa.

Concentration en IgG de souris : Voir 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 immunohisto-chimiques cohérentes d'un lot à l'autre.

Immunogène

Protéine recombinante exprimée dans *E. coli* correspondant au Melan-A (1).

Spécificité

Lors d'analyse par Western blot de lysats cellulaires provenant de lignées cellulaires positives à l'ARNm du Melan-A, l'anticorps marque un doublet protéique de 20-22 kDa, alors qu'aucun marquage n'est détecté dans les lignées cellulaires négatives à l'ARNm du Melan-A (1).

Dans les immunoprécipités de lignées cellulaires SK-MEL-13 et SK-MEL-19 positives au Melan-A, l'anticorps marque un doublet protéique de 20-22 kDa correspondant au Melan-A, alors qu'aucune précipitation n'est détectée dans les lignées cellulaires négatives à l'ARNm du Melan-A (1).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. 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, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
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

Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. Le prétraitement des tissus déparaffinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0. Toutefois, la Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700 et le tampon citrate à 10 mmol/L à pH 6,0 ou le prétraitement des tissus par la protéinase K se sont avérés inefficaces. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohisto-chimique suivante. 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.

Coupes congelées et préparations cellulaires : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes congelées et fixées à l'acétone et des préparations cellulaires (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 Melan-A, réf. M7196, peut être utilisé à une gamme de dilution de 1:25-1:50 lorsqu'il est appliqué sur des coupes de mélanome humain 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 IgG1, réf. X0931, dilué à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire.

Visualisation : Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+/HRP, par exemple la 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.

Limitations spécifiques du produit

En raison de l'immunoréactivité non spécifique, il a été rapporté que l'anticorps marque le cortex surrénal, les adénomes corticosurrénaux, et les carcinomes métastatiques corticosurrénaux (ACC), les angiomyolipomes (LMA) (5), les cellules de Leydig et les tumeurs de Leydig du testicule et de la granulosa et les cellules thécales de l'ovaire ainsi que les tumeurs des cellules de Sertoli-Leydig de l'ovaire (2, 3).

A l'aide du tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, pH 9,0 pour la restauration d'épitope induite par la chaleur, l'anticorps peut présenter une coloration de fond dans les cellules individuelles du rein.

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent un motif de coloration cytoplasmique (1).

Performances

Tissus sains : L'anticorps marque la peau, alors que l'estomac, le côlon, le poumon, le foie, la rate, le rein, le testicule, la vessie, le sein, l'ovaire, les cellules de muscle lisse et les tissus adipeux ne sont pas marqués par l'anticorps (1, 5). Il a été signalé que les cellules productrices de stéroïdes du cortex surrénal, de l'ovaire et du testicule étaient marquées par l'anticorps (2). Voir également les limites spécifiques du produit.

Tissus anormaux : Pour les mélanomes métastatiques, 16 cas sur 21 ont été marqués par l'anticorps, avec un marquage cytoplasmique homogène dans > 80 à 90% des cellules de mélanomes, à l'exception d'un cas qui a présenté une coloration focale (1). Lors d'une autre étude de 10 nævi mélanocytaires bénins, 10 mélanomes primaires et 75 mélanomes métastatiques, l'anticorps a marqué 10 nævi mélanocytaires bénins sur 10, 7 mélanomes primaires sur 10 et 61 mélanomes métastatiques sur 75 (2).

Sur 111 carcinomes, principalement des adénocarcinomes et des carcinomes à cellules squameuses, 40 tumeurs à cellules germinales et 33 tumeurs épithélioïdes non mélanocytaires diverses, aucun marquage par l'anticorps n'a été observé. L'anticorps a marqué 5 adénomes corticosurrénaux sur 5, 16 carcinomes corticosurrénaux primaires sur 16 et 13 carcinomes corticosurrénaux métastatiques sur 13, ainsi que 4 tumeurs des cellules de Leydig du testicule sur 4 et 3 tumeurs des cellules de Sertoli-Leydig de l'ovaire sur 4 (3). Lors d'une autre étude portant sur 316 cas, dont 21 tumeurs corticosurrénales, 16 carcinomes métastatiques de la surrénale, 10 phéochromocytomes, et 269 carcinomes extra-surrénaux, l'anticorps a marqué 14 adénomes corticosurrénaux sur 14, 7 carcinomes corticosurrénaux sur 7, 0 carcinome métastatique de la surrénale sur 16 et 0 phéochromocytome sur 10. Parmi les 269 carcinomes extra-surrénaux, un seul carcinome séreux de l'ovaire a été marqué (4).

Lors d'une étude, 18 angiomyolipomes sur 18 ont été marqués par l'anticorps (5). Dans un autre rapport, les trois angiomyolipomes testés ont été marqués par l'anticorps (2).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, Clone A103, ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Der Antikörper markiert Melanozyten und unterstützt die Klassifizierung von Melanomen (1, 2), adrenokortikalen Karzinomen (3, 4) und Angiomyolipomen (5). Die Differenzialklassifikation 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.

Synonyme

MART-1 (1).

Zusammenfassung und Erklärung

Melan-A, isoliert als ein melanomspezifisches Antigen, ist ein Transmembranprotein mit ungeklärter Funktion, das aus 118 Aminosäuren besteht (1). Das *Melan-A*-Gen wurde aus einer menschlichen Melanomzelllinie geklont, und seine Expression auf Melanomen wird von autologen zytotoxischen T-Zellen erkannt (6). Melan-A wird von Zellen der Haut, der Netzhaut und dem Großteil der Melanozyten und Melanome Zellkultur exprimiert, während der weit überwiegende Teil anderer untersuchter Gewebe und Karzinome Melan-A nicht exprimiert (1, 6, 7). Melan-A kann jedoch in Angiomyolipomen exprimiert werden (5). Neben Melan-A wurden noch sieben weitere Melanomantigene identifiziert: *MAGE-1*, *MAGE-3*, Tyrosinase, gp100, gp75, *BAGE-1* und *GAGE-1*. Diese werden alle von autologen zytotoxischen T-Zellen erkannt (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, Gewebepreparation, 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 Na₂S₂O₃ dialysierter Zellkulturüberstand.

Klon: A103 (1). **Isotyp:** IgG1, 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 Färberegebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

Immunogen

Rekombinantes Protein, in *E. coli* exprimiert und Melan-A entsprechend (1).

Spezifität

Beim Western-Blotting von Zelllysaten aus Melan-A-mRNA-positiven Zelllinien markiert der Antikörper ein Proteinpaar von 20-22 kDa, während in Melan-A-mRNA-negativen Zelllinien keine Markierung nachgewiesen werden konnte (1).

In Immunpräzipitaten von Melan-A-positiven Zelllinien SK-MEL-13 und SK-MEL-19 markiert der Antikörper ein Melan-A entsprechendes Proteinpaar mit einer molekularen Masse von 20-22 kDa, während in Melanom-Zelllinien, welche Melan-A-mRNA-negativ sind, keine Präzipitation nachgewiesen wird (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.

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.

Gewebepreparation

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Die Vorbehandlung des Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Resultate werden mit 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0, erzielt. Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, und 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6.0, sowie die Vorbehandlung von Gewebe mit Proteinase K erwiesen sich als ineffizient. Während der Gewebepreparation oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen. 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.

Gefrierschnitte und Zellpräparate: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten und Zellpräparaten (1). Das Färbeverfahren muss vom Anwender validiert werden.

Färbeverfahren

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.

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, Code-Nr. M7196, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von humanem malignem Melanom 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 IgG1, Code-Nr. X0931, empfohlen, das auf dieselbe Konzentration an Maus-IgG wie der primäre Antikörper verdünnt wurde.

Detektionssystem: Dako EnVision+HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4005) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Detektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.

Qualitätskontrolle: Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativ-Kontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

Produktspezifische Beschränkungen

Berichten zufolge markierte der Antikörper aufgrund der unspezifischen Immunreaktivität die Nebennierenrinde, Adenome der Nebennierenrinde, primäre und metastatische Nebennierenrindenzellen (ACC), Angiomyolipome (AML) (5), Leydig-Zellen und Leydig-Tumore der Hoden und Granulosa- und Thekazellen der Eierstöcke sowie Sertoli-Leydig-Zelltumore der Eierstöcke (2, 3).

Bei hitzeinduzierter Epitopdemaskierung mit 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0, kann der Antikörper eine Hintergrundfärbung in einzelnen Nierenzellen aufweisen.

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen ein zytoplasmatisches Färbemuster auf (1).

Leistungseigenschaften

Normalgewebe: Der Antikörper markiert Hautproben; Proben von Magen, Dickdarm, Lunge, Leber, Milz, Niere, Hoden, Harnblase, Brust, Eierstöcken, glatter Muskulatur und Fettgeweben werden dagegen nicht markiert (1, 5). Die steroidproduzierenden Zellen von Nebennierenrinde, Eierstöcken und Hoden wurden Berichten zufolge durch den Antikörper markiert (2). Siehe auch „Produktspezifische Beschränkungen“.

Anormale Gewebe: Bei metastatischen Melanomen wurden 16/21 Fällen durch den Antikörper markiert und zeigten eine homogene zytoplasmatische Färbung in über 80-90% der Melanomzellen. Nur in einem Fall kam es zu einer örtlich begrenzten Färbung (1). In einer weiteren Studie mit 10 benignen Melanozyten-Naevi, 10 primären und 75 metastatischen Melanomen markierte der Antikörper 10/10 Fällen der benignen Melanozyten-Naevi, 7/10 der primären und 61/75 der metastatischen Melanome (2).









Von 111 Karzinomen, hauptsächlich Adenokarzinomen und Plattenepithelkarzinomen, 40 Keimzelltumoren und 33 diversen epitheloiden Nicht-Melanozyten-Tumoren wurde kein einziger durch den Antikörper markiert. Der Antikörper markierte 5/5 Adenomen der Nebennierenrinde, 16/16 primären und 13/13 metastatischen Nebennierenrindenzellen sowie 4/4 Leydigzell-Tumoren des Hodens und 3/4 Sertoli-Leydig-Zell-Tumoren der Eierstöcke (3). In einer weiteren Studie mit 316 untersuchten Fällen, darunter 21 Nebennierenrindentumoren, 16 in die Nebenniere metastasierende Karzinome, 10 Phäochromozytome und 269 extraadrenale Karzinome, markierte der Antikörper 14/14 Adenomen der Nebennierenrinde, 7/7 Karzinomen der Nebennierenrinde, 0/16 metastatischen Karzinomen in der Nebenniere und 0/10 Phäochromozytomen. Von den übrigen 269 extraadrenalen Karzinomen wurde nur ein einziger Fall eines serösen Eierstock-Karzinoms markiert (4).

In einer Studie mit 18 Angiomyolipomen wurden alle 18 Fälle durch den Antikörper markiert (5). Ein weiterer Bericht schildert 3 untersuchte Angiomyolipome, welche ausnahmslos durch den Antikörper markiert wurden (2).

References / Bibliographie / Literaturnachweise

- Chen Y-T, Stockert E, Jungbluth A, Tsang S, Coplan KA, Scanlan MJ, et al. Serological analysis of Melan-A(MART-1), a melanocyte-specific protein homogeneously expressed in human melanomas. Proc Natl Acad Sci 1996;93:5915-9.
- Jungbluth AA, Busam KJ, Gerald WL, Stockert E, Coplan KA, Iversen K, et al. An anti-Melan-A monoclonal antibody for the detection of malignant melanoma in paraffin-embedded tissues. Am J Surg Pathol 1998;22:595-602.
- Busam KJ, Iversen K, Coplan KA, Old LJ, Stockert E, Chen Y-T, et al. Immunoreactivity for A103, an antibody to Melan-A (Mart-1), in adrenocortical and other steroid tumors. Am J Surg Pathol 1998;22:57-63.
- Loy TS, Phillips RW, Linder CL. A103 immunostaining in the diagnosis of adrenal cortical tumors. Arch Pathol Lab Med 2002;126:170-2.
- Jungbluth AA, Iversen K, Coplan K, Williamson B, Chen Y-T, Stockert T, et al. Expression of melanocyte-associated markers gp-100 and Melan-A/MART-1 in angiomyolipomas. Virchows Arch 1999;434:429-35.
- Coulie PG, Brichard V, Van Pel A, Wölfel T, Schneider J, Traversari C, et al. A new gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. J Exp Med 1994;180:35-42.
- Kawakami Y, Elyahu S, Delgado CH, Robbins PF, Rivoltini L, Topalian SL, et al. Cloning of the gene coding for a shared human melanoma antigen recognized by autologous T cells infiltrating into tumor. Proc Natl Acad Sci 1994;91:3515-9.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2°C - 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Use by Utiliser avant Verwendbar bis
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 EC REP	Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft		



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com