

**Monoclonal Mouse
Anti-Human Desmin**
Clone D33
Codenr. M 0760
Versie 19.12.02

Beoogd gebruik	In vitro diagnostische toepassingen. Monoclonal Mouse Anti-Human Desmin, Clone D33, is bestemd voor gebruik bij immunocytochemie. Het antilichaam labelt gladde en gestreepte spiercellen en mesotheliale cellen en kan worden gebruikt voor de identificatie van rhabdomyosarcomen (1, 2), leiomyomen (3, 4) en mesotheliomen (5). De differentiële identificatie wordt ondersteund door de resultaten van een panel antistoffen. De interpretatie moet door een deskundig patholoog worden uitgevoerd binnen de context van de klinische geschiedenis van de patient en andere diagnostische onderzoeken.
Inleiding	Desmine is een klasse III intermediair filament en is onderdeel van het cytoskelet; het is het karakteristieke intermediaire filament van alle drie types spiercellen (skelet-, hart- en gladde spier). Desmine is een 53 kDa eiwit, gecodeerd door negen exonen van een gen gelokaliseerd op 2q35. Desmine vormt een netwerk dat deel uitmaakt van het cytoskelet van de spiercel, en dat in het plasma grenst aan de kernmembraan; het is met name gelokaliseerd in de subplasmalemma zone en de Z-band (6).
Geleverd reagens	Monokonaal muis-antilichaam in vloeibare vorm als celcultuursupernatant, gedialyseerd tegen 0,05 mol/L Tris-HCl, pH 7,2; bevat 15 mmol/L NaN₃. <u>Kloon:</u> D33. <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Muis-IgG-concentratie:</u> zie etiket op het flesje.
Immunogeen	Desmine, gezuiverd uit menselijke spieren.
Specificiteit	Bij Western blotting van cytoskeletpreparaten van MCF-7-cellen, SCC-4-cellen, RT-112-cellen, epidermis, primaire cultuur van niercarcinoomcellen, leiomyoom, foetaal hart en ongezuiverd extract van humane witte materie, merkt de antistof alleen een band van ~53 kDa in de preparaten van leiomyoom en foetaal hart, wat de reactiviteit met Desmine en het ontbreken van reactiviteit met andere typen intermediaire filamenten aantoont (7). Zoals door immunocytochemie wordt aangetoond, vertoont de antistof een kruisreactie met het met Desmine equivalente eiwit bij muizen en ratten.
Voorzorgsmaatregelen	1. Voor deskundige gebruikers. 2. Dit product bevat natriumazide (NaN₃), een chemische stof die in zuivere vorm uiterst toxisch is. In productconcentraties wordt natriumazide niet geclassificeerd als gevaarlijk, maar kan het reageren met loden en koperen leidingen, waarbij uiterst explosieve metaalaziden worden gevormd. Bij het afvoeren spoelen met ruime hoeveelheden water om stapeling van metaalaziden in de leidingen te voorkomen. 3. Zoals bij alle producten verkregen uit biologische grondstoffen dienen de juiste behandelingsprocedures te worden gebruikt.
Bewaring	Bewaren bij 2-8 °C. Niet gebruiken na de op de flacon vermelde houdbaarheidsdatum. Als reagentia worden bewaard onder andere omstandigheden dan hier vermeld, moet de gebruiker de omstandigheden controleren. Er zijn geen duidelijke aanwijzingen voor instabiliteit van dit product. U dient daarom tegelijk met de patiëntmonsters positieve en negatieve controles te laten lopen. Als er onverwachte kleuring wordt vastgesteld die niet verklaard kan worden door variaties in de laboratoriumprocedures en er een probleem met de antistof wordt vermoed, neemt u contact op met onze technische dienst.
Specimenvoorbereiding	<u>Paraffinecoupes:</u> Het antilichaam kan worden gebruikt voor het labelen van in paraffine ingebedde weefselpreparaten gefixeerd in formaline of B5-fixatief (1). Voorbehandeling van de weefsels met door warmtebehandeling geïnduceerd herstel van de epitop is vereist. Voor in formaline gefixeerde weefsels worden optimale resultaten verkregen met Dako Target Retrieval Solution, High pH, codenr. S 3308 of 10 mmol/L Tris-buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0. Minder optimale resultaten worden verkregen met Dako Target Retrieval Solution, codenr. S 1700 of 10 mmol/L citraatbuffer, pH 6,0. Er werd vastgesteld dat voorbehandeling van weefsel met proteïnase K inefficiënt was. De weefselcoupes mogen tijdens de behandeling of de daaropvolgende immunocytochemische kleuringsprocedure niet uitdrogen. <u>Ingevroren coupes en celpreparaten:</u> De antistof kan gebruikt worden voor het merken van ingevroren coupes (7) en gefixeerde celuitstrijkjes (1, 5).
Kleuringsprocedure	<u>Verdunning:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human Desmin, codenr. M 0760, kan gebruikt worden in een verdunning van 1:50-1:100 wanneer het wordt aangebracht op in formaline gefixeerde, in paraffine ingebedde coupes van humane colon en met door warmtebehandeling geïnduceerd herstel van de epitop gedurende 20 minuten in Dako Target Retrieval solution, High pH, codenr. S 3308 en incubatie met de primaire antistof bij kamertemperatuur gedurende 30 minuten. De optimale omstandigheden kunnen variëren afhankelijk van het specimen en de bereidingsmethode en dienen door het betreffende laboratorium te worden bepaald. De aanbevolen negatieve controle is Dako Muizen-IgG1, codenr. X 0931, verdund tot dezelfde muizen-IgG-

concentratie als de primaire antistof. Tenzij de stabiliteit van de verdunde antistof en negatieve controle zijn vastgesteld in de eigenlijke kleuringsprocedure, adviseren wij om deze reagentia direct voor gebruik te verdunnen of om ze te verdunnen in Dako Antibody Diluent, codenr. S 0809. Positieve en negatieve controles dienen gelijktijdig met de patiëntenspecimens te worden getest.

Visualisatie: DAKO LSAB™+/HRP-kit, codenr. K 0679 en DAKO EnVision™+/HRP-kits, codenrs. K 4004 en K 4006 worden aanbevolen. Voor vriescoupes en celpreparaten vormt de Dako APAAP-kit, codenr. K 0670, een goed alternatief wanneer de endogene peroxidasekleuring problemen oplevert. Volg de bij de gekozen visualisatiekit bijgesloten procedure.

Automatisering: De antistof is geschikt voor immunocytochemische kleuring met geautomatiseerde apparaten, zoals de Dako Autostainer.

Werkingsspecifieke kenmerken

Met de antistof gemerkte cellen vertonen een cytoplasmisch kleuringspatroon. De kleuring kan een fibrillair aspect vertonen (7).

Normale weefsels: Het antilichaam labelt vasculaire gladde spiercellen en oesophageale gladde spiercellen (3). In 8 van 10 gefixeerde weefsels labelde het antilichaam mesotheliale cellen (5). Behalve voor de cellen zie afkomstig van spieren zijn normaal beenmerg, nieren, borsten, prostaatklier, hersenen (grijze stof), jejunum, schildklier, long, colon, maag, ureter en tonsil negatief (1). In foetaal bevroren weefsels labelt het antilichaam gladde spiercellen in de bloedvaten en de dunne darm, skeletspiercellen in de tong, cardiale spiercellen, stromacellen van de medulla van de nier, de decidua, placenta-villi en de navelstreng, submesotheliale stromacellen van het pericard en mesotheliale cellen (7).

Abnormale weefsels: Bij menselijke rhabdomyosarcomen labelde het antilichaam 4/4 tumoren (1). Bij de menselijke oesophagus labelde het antilichaam 35/35 leiomyomen, 1/3 leiomyosarcomen en 3/17 stromatumoren (3). Daarnaast labelde het antilichaam 33/33 sterk cellulaire leiomyomen van de uterus (4). Ook labelde het antilichaam 8/16 maligne diffuse mesotheliomen van de pleura (5). Bij menselijke vaginale en endocervicale poliepen labelde het antilichaam zowel de achtergrondstromacellen als de atypische stromacellen binnen de subepitheliale zone (8). De antistof vertoonde geen merking bij elk 10 casussen van neuroblastoom, lymfoom, Wilms-tumor, primitieve neuro-ectodermale tumor en retinoblastoom (2), en evenmin trad merking op bij 4 casussen van kleincellig longcarcinoom, 3 casussen van Ewing-sarcoom (1) en 6 casussen van endometriële stromanoduli (4).

Referenties

1. Chang TK, Li CY, Smithson WA. Immunocytochemical study of small round cell tumors in routinely processed specimens. Arch Pathol Lab Med 1989;113:1343-8.
2. Pollock L, Rampling D, Greenwald SE, Malone M. Desmin expression in rhabdomyosarcoma: influence of the desmin clone and immunohistochemical method. J Clin Pathol 1995;48:535-8.
3. Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Sobin LH, Lasota J. Esophageal stromal tumors. A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 17 cases and comparison with esophageal leiomyomas and leiomyosarcomas. Am J Surg Pathol 2000;24:211-22.
4. Oliva E, Young RH, Clement PB, Bhan AK, Scully RE. Cellular benign mesenchymal tumors of the uterus. A comparative morphologic and immunohistochemical analysis of 33 highly cellular leiomyomas and six endometrial stromal nodules, two frequently confused tumors. Am J Surg Pathol 1995;19:757-68.
5. Hurlimann J. Desmin and neural marker expression in mesothelial cells and mesotheliomas. Hum Pathol 1994;25:753-7.
6. Goebel HH, Warlo IAP. Progress in desmin-related myopathies (review). J Child Neurol 2000;15:565-72.
7. Van Muijen GNP, Ruiter DJ, Warnaar SO. Coexpression of intermediate filament polypeptides in human fetal and adult tissues. Lab Invest 1987;57:359-69.
8. Pitt MA, Roberts ISD, Agbamu DA, Eyden BP. The nature of atypical multinucleated stromal cells: a study of 37 cases from different sites. Histopathol 1993;23:137-45.

Verklaring van de symbolen

	Catalogusnummer		Temperatuurlimiet		Fabrikant
	Medisch hulpmiddel voor in vitro diagnostiek		Lotnummer		
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing		Houdbaar tot		