

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Melan-A
 Clone A103
Ready-to-Use
 (Link)

Code IR633

ENGLISH

Intended use	<p>For in vitro diagnostic use.</p> <p>FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A Clone A103, Ready-to-Use (Link), is intended for use in immunohistochemistry (IHC) together with Autostainer Link instruments. This antibody is a useful aid for 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.</p>
Synonym for antigen	MART-1
Summary and explanation	<p>Melan-A, isolated as a melanoma-specific antigen, is a transmembrane protein composed of 118 amino acids with uncertain function (1). The <i>Melan-A</i> 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: <i>MAGE-1</i>, <i>MAGE-3</i>, tyrosinase, gp100, gp75, <i>BAGE-1</i> and <i>GAGE-1</i>, which are all recognized by autologous cytotoxic T cells (1).</p> <p>Refer to <i>Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> 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.</p>
Reagent provided	<p>Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L NaN₃.</p> <p><u>Clone:</u> A103. <u>Isotype:</u> IgG1, kappa.</p>
Immunogen	Recombinant protein expressed in <i>E. coli</i> corresponding to Melan-A (1).
Specificity	<p>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 labelling is detected in Melan-A mRNA-negative cell lines (1).</p> <p>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).</p>
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> For in vitro diagnostic use. For professional users. This product contains sodium azide (NaN₃), 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. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.
Storage	<p>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.</p>
Specimen preparation	<p>The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.</p> <p>Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required using Dako PT Link. For details, please refer to the PT Link User Guide. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8004)</p> <p><u>Paraffin-embedded sections:</u> Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using the 3-in-1 specimen preparation procedure for Dako PT Link. After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method.</p> <p><u>Deparaffinized sections:</u> Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link and following the same procedure as described for paraffin-embedded sections. After staining the slides should be mounted using an aqueous or a permanent mounting method.</p> <p>The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended.</p>
Staining procedure	<p>The recommended visualization system is EnVision FLEX, High pH (Link) (Code K8000). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the Autostainer Link software. The recommended reagent application volume is 1 x 200 µL or 2 x 150 µL per slide. Please refer to the proper Autostainer Link User Guide for detailed instructions on loading slides and reagents. If the protocols are not available on the used Autostainer platform, please contact Dako Technical Support. All incubation steps should be performed at room temperature. Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision FLEX Hematoxylin (Link) (Code K8008).</p> <p>Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include normal skin and malignant melanoma and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics". The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse (Link) (Code IR750).</p>
Staining interpretation	The cellular staining pattern is cytoplasmic.

Performance characteristics	<p>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).</p> <p>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 labelled 10/10 benign melanocytic nevi, 7/10 primary melanomas and 61/75 metastatic melanomas (2).</p> <p>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).</p> <p>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).</p>
------------------------------------	--

FRANÇAIS

Utilisation prévue	<p>Pour utilisation diagnostique in vitro.</p> <p>L'anticorps FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A Clone A103, Ready-to-Use (Link), est destiné à une utilisation en immunohistochimie (IHC) avec les instruments Autostainer Link. Cet anticorps est 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 histochimiques non immunologiques.</p>
Synonyme de l'antigène	MART-1
Résumé et explication	<p>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 <i>Melan-A</i> 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).</p> <p>Consulter le document <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Instructions générales de coloration immunohistochimique) 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.</p>
Réactif fourni	<p>Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L de NaN₃.</p> <p>Clone : A103. Isotype : IgG1, kappa.</p>
Immunogène	Protéine recombinante exprimée dans <i>E. coli</i> correspondant au Melan-A (1).
Spécificité	<p>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).</p> <p>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).</p>
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none"> Pour utilisation diagnostique in vitro. Pour utilisateurs professionnels. 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. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.
Conservation	<p>Conserver 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.</p>
Préparation des échantillons	<p>L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons tissulaires doit être d'environ 4 µm.</p> <p>Le prétraitement avec une restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER) est nécessaire à l'aide du Dako PT Link. Pour plus de détails, se référer au Guide d'utilisation du PT Link. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de la solution EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50 x) (réf. K8004).</p> <p>Coupes incluses en paraffine : Le prétraitement des coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine est recommandé à l'aide de la procédure 3 en 1 de préparation des échantillons pour Dako PT Link. Une fois la procédure de coloration terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées selon une méthode de montage permanent.</p> <p>Coupes déparaffinées : Le prétraitement des coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine puis déparaffinées est recommandé à l'aide du Dako PT Link en suivant la même procédure que pour les coupes incluses en paraffine, déjà décrite. Après coloration, un montage aqueux ou permanent des lames est recommandé.</p> <p>Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissu sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser les lames FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020).</p>
Procédure de coloration	<p>Le système de visualisation recommandé est le système EnVision FLEX, High pH (Link) (réf. K8000). Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel Autostainer Link. Le volume de réactif recommandé devant être appliqué est le suivant : 1 x 200 µL ou 2 x 150 µL par lame. Se reporter au Guide d'utilisation de l'Autostainer Link correspondant pour plus de détails sur</p>

le chargement des lames et des réactifs. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur la plateforme Autostainer utilisée, contacter l'assistance technique Dako. Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction de l'échantillon et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement.

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide de EnVision FLEX Hematoxylin (Link) (réf. K8008).

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. Le tissu de contrôle positif doit comprendre la peau saine et le mélanome malin et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que décrits pour ce tissu dans les "Performances". Le réactif de contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Mouse, (Link) (réf. IR750).

Interprétation de la coloration

Le motif de coloration cellulaire est cytoplasmique.

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).

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.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, Clone A103, Ready-to-Use (Link) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) in Verbindung mit Autostainer Link-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper 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.

Synonym für das Antigen

MART-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 kloniert, und seine Expression in 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

Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0.015 mol/L NaN₃ enthält.

Klon: A103. Isotyp: IgG1, Kappa.

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 Immunpräzipitationen 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

Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Es ist eine Vorbehandlung durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER-Verfahren) mit dem Dako PT Link erforderlich. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8004) erzielt werden.

Paraffineingebettete Schnitte: Die Vorbehandlung der formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitte mit dem 3-in-1-Gewebevorbereitungsverfahren für Dako PT Link wird empfohlen. Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Eindeckmediums auf Objektträger eingedeckt werden.

Entparaffinierte Schnitte: Eine Vorbehandlung der entparaffinierten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte mit Dako PT Link und nach demselben Verfahren, wie für die paraffineingebetteten Schnitte beschrieben, wird empfohlen. Nach Durchführung des Färbeverfahrens müssen die Objektträger unter Verwendung eines geeigneten permanenten Eindeckmediums eingedeckt werden.

Während der Gewebevorbehandlung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glas-Objektträgern werden FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.

Färbeverfahren

Das empfohlene Detektionssystem ist EnVision FLEX, High pH (Link) (Code-Nr. K8000). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Autostainer Link-Software vorprogrammiert. Das empfohlene Reagenzvolumen beträgt 1 x 200 µL oder 2 x 150 µL pro Objektträger. Detaillierte Anweisungen zum Laden der Objektträger und Reagenzien bitte dem Benutzerhandbuch zum Autostainer Link entnehmen. Wenn die Protokolle auf der verwendeten Autostainer-Plattform nicht verfügbar sind, bitte den technischen Kundendienst von Dako verständigen. Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden.

Optimale Bedingungen können je nach Gewebe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision FLEX Hämatoxylin (Link) (Code-Nr. K8008) ausgeführt werden.

Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden. Das Positivkontrollgewebe sollte gesundes Hautgewebe und maligne Melanomzellen enthalten, und die Zellen/Strukturen müssen die für dieses Gewebe unter „Leistungseigenschaften“ beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativkontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse (Link) (Code-Nr. IR750).

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster ist zytoplasmatisch.

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).

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 Nebennierenrindenzinomen 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, Eliyahu 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 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	 Σ	Contains sufficient for <n> tests Contenance suffisante pour <n> tests Ausreichend für <n> Tests		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Voir les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung		

Revision 2016.04