

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Mast Cell Tryptase**
Clone AA1
Code M7052

ENGLISH**Intended use**

For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human Mast Cell Tryptase, Clone AA1, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels human mast cells and is a useful aid for the classification of mast cell leukemia (1). 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.

Summary and explanation

Human mast cell tryptases (EC 3.4.21.59) comprise a family of trypsin-like neutral serine proteases that are predominantly expressed in mast cells (2). In its enzymatically active form, mast cell tryptase exists as a non-covalently linked tetramer of 132 kDa (2, 3). Mast cell tryptase is capable of degrading vasoactive intestinal peptide and activating prekallikrein as well as generating kinins, all important mediators involved in bronchoconstriction and airway hyperresponsiveness, which are major contributors to allergic airway disease (2). Mast cell tryptase also exhibits mitogenic effect on human airway smooth muscle cells, and human lung and dermal fibroblasts. Both smooth muscle hyperplasia and fibrotic changes can lead to thickening of the airway wall and a permanent reduction in airway calibre (2). Mast cells are activated by a number of stimuli, including antigen, superoxides, complement protein, neuropeptides and lipoproteins, resulting in activation and degranulation. Mast cell degranulation and thereby release of mast cell tryptase as well as histamine, leukotrienes and cytokines into the surrounding tissue is a pivotal event in an inflammatory response and seems to play an important role in host defense against pathogens (4).

Identification of mast cells through staining of tissues with antibodies specific for human mast cell tryptase has been useful in classification of focal and diffuse MC infiltrates. Demonstration of mast cell tryptase is essential for the classification of highly atypical, hypogranulated or even non-metachromatic MCs, especially in MC leukemia (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 NaN₃.

Clone: AA1 (3). 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

Mast cell tryptase isolated from human lung (3).

Specificity

In Western blotting of a tryptase-rich extract of human lung under reducing conditions, the antibody labels a band of approximately 32.5 kDa corresponding to human mast cell tryptase (3).

In indirect ELISA the antibody reacts with purified human mast cell tryptase (3).

Antibody-binding to the mast cell tryptase does not affect enzyme activity (3).

Periodate treatment of mast cell tryptase has no effect on antibody labeling, indicating that carbohydrate epitopes are not involved in antibody recognition. Nor is antibody recognition affected by the presence of heparin (3).

Precautions

1. For in vitro diagnostic use.
2. For professional users.
3. 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.
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 user must verify the conditions. 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 or Carnoy's reagent, although the structural integrity of the mast cells is better preserved with formalin fixation (6). Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is required. For tissues fixed in formalin, optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0, or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. Pre-treatment of tissues with proteinase K or trypsin (6) was found less efficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labeling Carnoy's or acetone/methanol fixed, frozen sections and cell preparations (3). 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 Mast Cell Tryptase, Code M7052, may be used at a dilution range of 1:100-1:200 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, 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. 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.

Visualisation: 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

In specimens fixed in Carnoy's reagent, non-specific labeling of collagen has been reported in one study (7) but was not observed in another (6).

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display a highly specific granular cytoplasmic staining pattern, corresponding to the secretory granules of mast cells (3).

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody specifically labels mast cells (MC) in a number of human tissues, including lung, tonsil, colon, gastric mucosa and skin, whereas only a few MCs are detectable in the pituitary gland (6). The antibody does not label basophils, eosinophils, neutrophils, monocytes or lymphocytes and, likewise, no labeling has been observed in keratinocytes (3).

Abnormal tissues: In a study of more than 150 cases of different MC disorders, it was demonstrated that <4 MCs/mm² were labelled in bone marrow in most normal and reactive states, whereas >5 but <100 were labelled in myelodysplastic syndromes. More than 100 MCs/mm² were detected in MC neoplasias, and cases with a much higher number (maximum 2655 MCs/mm²) were often observed (1).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Mast Cell Tryptase, Clone AA1, est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). L'anticorps marque les mastocytes humains et facilite la classification des leucémies à mastocytes (1). 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 histochemiques non immunologiques.

Résumé et explication

Les tryptases des mastocytes humains (EC 3.4.21.59) comprennent une famille de protéases à sérine neutres similaires à la trypsine, qui sont exprimées de manière prépondérante dans les mastocytes (2). Dans sa forme active du point de vue enzymatique, la tryptase des mastocytes existe sous la forme d'un tétramère de 132 kDa, lié de manière non covalente (2, 3). La tryptase des mastocytes est capable de dégrader les peptides intestinaux vasoactifs et d'activer la prékallicréine ainsi que de générer des kinines, qui sont toutes d'importants médiateurs impliqués dans la broncho-constriction et l'hypersensibilité des voies aériennes, qui contribuent dans une large mesure aux maladies allergiques des voies aériennes (2). La tryptase des mastocytes produit également un effet mitogénique sur les cellules de muscle lisse des voies aériennes humaines et sur les fibroblastes dermiques et pulmonaires humains. L'hyperplasie des muscles lisses et les changements fibrotiques peuvent conduire à un épaississement de la paroi des voies aériennes et à une réduction permanente du calibre des voies aériennes (2). Les mastocytes sont activés par un certain nombre de stimuli, notamment les antigènes, les superoxydes, les protéines du complément, les neuropeptides et les lipoprotéines, entraînant une activation et une dégranulation. La dégranulation des mastocytes et, par conséquent, la libération de tryptase des mastocytes, d'histamine, de leucotriènes et de cytokines dans le tissu environnant est un événement crucial dans une réponse inflammatoire et semble jouer un rôle important dans la défense de l'hôte contre les agents pathogènes (4).

L'identification de mastocytes grâce à la coloration de tissus par des anticorps spécifiques à la tryptase des mastocytes humains a permis la classification d'infiltrats circonscrits ou diffus de mastocytes. Faire la preuve de la présence de la tryptase de mastocyte est essentiel pour la classification de mastocytes hautement atypiques, hypogranulés ou même non métachromatiques, surtout dans la leucémie à mastocytes (1).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochemique) de Dako ou les instructions du système 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 : AA1 (3). **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 immunohistochemiques cohérentes d'un lot à l'autre.

Immunogène

Tryptase de mastocyte isolée dans le poumon humain (3).

Spécificité

Dans le Western blot d'un extrait de poumon humain riche en tryptase dans des conditions réductrices, l'anticorps marque une bande d'environ 32,5 kDa, correspondant à la tryptase de mastocyte humain (3).

Par test ELISA indirect, l'anticorps réagit avec la tryptase de mastocyte humain purifiée (3).

La liaison de l'anticorps à la tryptase de mastocyte n'affecte pas l'activité enzymatique (3).

Le traitement au périodate de la tryptase de mastocyte n'a aucun effet sur le marquage par l'anticorps, indiquant que les épitopes à hydrates de carbone ne sont pas impliqués dans la reconnaissance de l'anticorps. La reconnaissance de l'anticorps n'est pas affectée non plus par la présence de l'héparine (3).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. 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, respecter les procédures de manipulation appropriées.
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 de 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 ou au liquide de Carnoy, bien que l'intégrité structurelle des mastocytes soit mieux préservée avec la fixation au formol (6). Le prétraitement des tissus déparaffinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est nécessaire. Pour les tissus fixés au formol, des résultats optimaux sont obtenus avec la solution Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, dans un tampon citrate à

10 mmol/L, à pH 6,0, ou dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0. Le prétraitement des tissus par la protéinase K ou la trypsine (6) s'est révélé moins efficace. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante.

Coupes congelées et préparations cellulaires : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes congelées fixées à l'acétone/méthanol ou au liquide de Carnoy, ainsi que pour les préparations cellulaires (3). 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 : L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Mast Cell Tryptase, réf. M7052, peut être utilisé à une gamme de dilution de 1:100 à 1:200 lorsqu'il est appliqué sur des coupes d'amygdale humaine fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant une restauration d'épitope induite par la chaleur de 20 minutes dans la solution Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, 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. 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.

Visualisation : Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+HRP, 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

Dans les échantillons fixés au liquide de Carnoy, un marquage non spécifique du collagène a été signalé dans une étude (7), mais n'a pas été observé dans une autre (6).

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent un motif de coloration cytoplasmique granulaire hautement spécifique, correspondant aux granules de sécrétion des mastocytes (3).

Performances

Tissus sains : L'anticorps marque spécifiquement les mastocytes (MC) dans un certain nombre de tissus humains, notamment le poumon, l'amygdale, le côlon, la muqueuse gastrique et la peau, tandis que seuls quelques MC sont détectables au niveau de l'hypophyse (6). L'anticorps ne marque pas les basophiles, les éosinophiles, les neutrophiles, les monocytes et les lymphocytes, et de la même manière, aucun marquage des kératinocytes n'a été observé (3).

Tissus anormaux : Dans une étude portant sur plus de 150 cas de divers troubles des MC, il a été démontré que <4 MC/mm² étaient marqués dans la moelle osseuse dans la plupart des cas normaux et réactifs, tandis que >5 mais <100 étaient marqués dans les syndromes myélodysplasiques. Plus de 100 MC/mm² ont été détectés dans les néoplasies à MC, et des cas avec un nombre encore plus élevé (maximum 2655 MC/mm²) ont été souvent observés (1).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human Mast Cell Tryptase, Clone AA1, ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Dieser Antikörper markiert humane Mastzellen und unterstützt die Klassifizierung von Mastzellenleukämien (1). 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.

Zusammenfassung und Erklärung

Humane Mastzellen-Tryptasen (EC 3.4.21.59) bilden eine Familie trypsinähnlicher neutraler Serinproteasen, die vorwiegend in Mastzellen exprimiert werden (2). In ihrer enzymatisch aktiven Form liegt die Mastzellen-Tryptase als nichtkovalent gebundenes Tetramer mit 132 kDa vor (2, 3). Die Mastzellen-Tryptase kann vasoaktives intestinales Peptid degradieren, Präkallikrein aktivieren sowie Kinine erzeugen, also alle wichtigen Mediatoren, die an einer Bronchokonstriktion und einer Atemwegshyperreaktivität, den Hauptfaktoren für die allergische Atemwegserkrankung (2), beteiligt sind. Die Mastzellen-Tryptase zeigt außerdem einen mitogenen Effekt auf Zellen der glatten Muskulatur beim Menschen, Zellen der Atemwege sowie auf humane Lungen- und Hautfibroblasten. Sowohl eine Hyperplasie als auch fibrotische Veränderungen der glatten Muskulatur kann zu einer Verdickung der Atemwegswand und zu einer dauerhaften Verkleinerung der Atemwegsweite führen (2). Mastzellen werden durch eine Reihe von Stimuli aktiviert (z. B. Antigene, Superoxide, Komplementproteine, Neuropeptide und Lipoproteine), was zu einer Aktivierung und Degranulation führt. Die Degranulation der Mastzellen und damit die Freisetzung der Mastzellen-Tryptase sowie von Histamin, Leukotrienen und Zytokinen in das umgebende Gewebe ist ein Wendepunkt in einer Entzündungsreaktion und scheint eine wichtige Rolle bei der Wirtsimmunabwehr gegen Pathogene zu spielen (4).

Die Erkennung von Mastzellen durch Färben des Gewebes mit Antikörpern, die für die humane Mastzellen-Tryptase spezifisch sind, hat die Klassifizierung von fokalen und diffusen Mastzellen-Infiltraten unterstützt. Der Nachweis der Mastzellen-Tryptase ist für die Klassifizierung äußerst atypischer, hypogranulierter oder sogar nichtmetachromatischer Mastzellen unentbehrlich, insbesondere bei der Mastzellenleukämie (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

Monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form als gegen 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 und 15 mmol/L NaN₃ dialysierter Zellkulturüberstand.

Klon: AA1 (3). **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 Färbegergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

Immunogen

Aus humaner Lunge isolierte Mastzellen-Tryptase (3).

Spezifität

Beim Western-Blotting eines tryptasereichen Extrakts aus humaner Lunge unter reduzierenden Bedingungen markiert der Antikörper eine Bande von etwa 32.5 kDa entsprechend der humanen Mastzellen-Tryptase (3).

Beim indirekten ELISA-Verfahren reagiert der Antikörper mit gereinigter humaner Mastzellen-Tryptase (3).

Die Bindung des Antikörpers an die Mastzellen-Tryptase wirkt sich nicht auf die Enzymaktivität aus (3).

Eine Periodatbehandlung der Mastzellen-Tryptase wirkt sich nicht auf die Markierung durch den Antikörper aus, was darauf hinweist, dass Kohlenhydratepitope nicht an der Antikörpererkennung beteiligt sind. Auch das Vorliegen von Heparin wirkt sich nicht auf die Antikörpererkennung aus (3).

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.

- Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
- Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
- 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.

Gewebevorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von paraffineingebetteten, in Formalin oder Carnoy'scher Lösung fixierten Gewebeschnitten, wobei die strukturelle Integrität der Mastzellen bei Formalinfixierung besser erhalten bleibt (6). Die Vorbehandlung des Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ist erforderlich. Bei formalinfixierten Geweben werden optimale Resultate mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6,0, oder 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0 erzielt. Die Vorbehandlung der Gewebe mit Proteinase K oder Trypsin (6) erwies sich als weniger effizient. Während der Gewebevorbehandlung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und Zellpräparate: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von in Carnoy'scher Lösung oder Azeton/Methanol fixierten Gefrierschnitten und Zellpräparaten (3). 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 Mast Cell Tryptase, Code-Nr. M7052, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von menschlichem Mandelgewebe bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten in Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:100 und 1:200 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. 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.

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 Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

Produktspezifische Beschränkungen

Bei Proben mit Fixierung in Carnoy'scher Lösung wurde in einer Studie (7) eine unspezifische Markierung berichtet, die in einer anderen Studie jedoch nicht beobachtet wurde (6).

Auswertung der Färbung

Mit dem Antikörper markierte Zellen weisen ein hochspezifisches zytoplasmatisches Färbemuster auf, das den Sekretgranula der Mastzellen entspricht (3).

Leistungseigenschaften









Normalgewebe: Der Antikörper markiert spezifisch Mastzellen (MC) in verschiedenen humanen Geweben (z. B. Lunge, Mandeln, Dickdarm, Magenschleimhaut und Haut), wohingegen nur wenige Mastzellen in der Hypophyse nachweisbar sind (6). Der Antikörper markiert keine Basophilen, Eosinophilen, Neutrophilen, Monozyten oder Lymphozyten; ebenso wurde bei Keratinozyten keine Färbung beobachtet (3).

Anormale Gewebe: In einer Studie an mehr als 150 Fällen verschiedener Mastzellenerkrankungen wurde nachgewiesen, dass <4 MC/mm² im Knochenmark in den meisten normalen und reaktiven Status markiert wurden, wohingegen bei myelodysplastischen Syndromen >5, jedoch <100 markiert wurden. Bei MC-Neoplasien wurden mehr als 100 MC/mm² erkannt und Fälle mit deutlich größerer Anzahl (bis zu 2655 MC/mm²) wurden häufig beobachtet (1).

References/ Références/ Literatur

- Horny H-P, Valent P. Diagnosis of mastocytosis: general histopathological aspects, morphological criteria, and immunohistochemical findings. *Leuk Res* 2001;25:543-51.2. Abraham WM. Tryptase: potential role in airway inflammation and remodelling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002;282:L193-L196.
- Walls AF, Bennett AR, McBride HM, Glennie MJ, Holgate ST, Church MK. Production and characterization of monoclonal antibodies specific for human mast cell tryptase. *Clin Exp Allergy* 1990;20:581-9.
- Krishnaswamy G, Kelley J, Johnson D, Youngberg D, Stone W, Huang S-K, et al. The human mast cell: functions in physiology and disease. *Front Biosci* 2001;6:d1109-27.
- Koda W, Harada K, Tsuneyama K, Kono N, Sasaki M, Matsui O, et al. Evidence of the participation of peribiliary mast cells in regulation of the peribiliary vascular plexus along the intrahepatic biliary tree. *Lab Invest* 2000;80:1007-17.
- Walls AF, Jones DB, Williams JH, Church MK, Holgate ST. Immunohistochemical identification of mast cells in formaldehyde-fixed tissue using monoclonal antibodies specific for tryptase. *J Pathol* 1990;162:119-26.
- Morgan SJ, Williams JH, Walls AF, Church MK, Holgate ST, McGill JI. Mast cell numbers and staining characteristics in the normal and allergic human conjunctiva. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:111-6.

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