

**Polyclonal Rabbit
Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein
Code Z0334**

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

Polyclonal Rabbit Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). This antibody is a useful aid for the identification of astrocytes in the central nervous system (CNS). Results aid in the classification of neoplasms of astrocytic/glial origin (2-4). 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

GFAP is a 50 kDa intracytoplasmic filamentous protein that constitutes a portion of the cytoskeleton in astro-cytes, and it has proved to be the most specific marker for cells of astrocytic origin. In the central rod domain of the molecule, GFAP shares considerable structural homology with the other intermediate filaments (5). Functionally, GFAP is thought to be important in astrocyte motility and shape by providing structural stability to astrocytic processes (1).

Following injury to the human CNS caused by trauma, genetic disorders, or chemicals, astrocytes proliferate and show extensive hypertrophy of the cell body and processes, and GFAP is markedly upregulated. In contrast, with increasing astrocyte malignancy, there is a progressive loss of GFAP production (5).

Outside the CNS, sensitive detection methods may demonstrate GFAP in Schwann cells, enteric glia cells, salivary gland neoplasms, and metastasizing renal carcinomas. Additionally, GFAP immunoreactivity has been demonstrated in epiglottic cartilage, pituicytes, immature oligodendrocytes, papillary meningiomas (1), and myoepithelial cells of the breast (6).

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

Purified immunoglobulin fraction of rabbit antiserum provided in liquid form. In 0.1 mol/L NaCl, 15 mmol/L NaN₃, pH 7.2.

Protein concentration g/L: See label on vial.

The antibody titre variation between different lots is less than 10% as measured by single radial immunodiffusion. This is achieved by adjusting the titre of each individual lot to match the titre of a reference preparation kept at -80 °C.

Immunogen

GFAP isolated from cow spinal cord.

Specificity

The antibody has been solid-phase absorbed with human and cow serum proteins.

In crossed immunoelectrophoresis using 50 µL antibody per cm² gel area, no reaction with 2 µL human plasma and 2 µL cow serum is observed. The antibody shows one distinct precipitate (GFAP) with cow brain extract. Staining: Coomassie Brilliant Blue.

In indirect ELISA, the antibody shows no reaction with human plasma and cow serum.

GFAP shows 90-95% homology between species (5), and as demonstrated by immunocytochemistry, the antibody reacts strongly with human GFAP.

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. Pre-treatment of deparaffinized tissues with proteinase K is recommended as it gives the most crisp and specific staining. Heat-induced epitope retrieval allows a higher dilution of the antibody, but tends to cause non-specific staining. The tissue sections should not dry out during the treatment or the following immunohistochemical staining procedure.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labeling frozen sections (9) and cell preparations (7). See, however, "Product-specific limitations" below. 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: Polyclonal Rabbit Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein, Code Z0334, may be used at a dilution of 1:500 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human brain and using 5 minutes proteolytic antigen retrieval with Dako Proteinase K, Code S3020, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined by each individual laboratory. The recommended negative control is Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), Code X0936, diluted to the same protein concentration as the primary antibody. Unless the stability in the actual test system has been established, it is recommended to dilute the product immediately before use or dilute in Dako Antibody Diluent, Code S0809.

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.

Visualization: Dako EnVision+ /HRP kits, e.g. Code K4009, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization system.

Product-specific limitations

In acetone-fixed frozen tissues (9), and tissues fixed for 4-12 h in Bouin's or Lillie's fixative (8), the antibody has been shown to label certain neuronal structures, including axons, indicating a cross-reaction with neurofilament. This has not been observed in formalin-fixed tissues.

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display staining confined to the cytoplasm.

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody labels astrocytes in the brain (3), follicular-stellate cells of the pituitary gland (10), Schwann cells, and enteric glia cells. Additionally, myoepithelial cells of the breast (6) and parotid gland (9) are labeled. In human skin, connective tissue, lymphatic tissue, muscle, liver, pancreas, ureter and bladder no staining is observed.

Abnormal tissues: All of 23 glioblastoma multiforme (GBM) were labeled by the antibody. In 20 of the 23 GBMs, at least 50% of malignant cells were labeled. Only 3 of 22 cases of carcinoma metastatic to the brain were labeled. This labeling was focal and limited to less than 10% of malignant cells (3). 5/5 hemispheric astrocytomas of the rare granular type showed focal GFAP labeling with the antibody (4), which also labeled 7/7 pleomorphic xanthoastrocytomas (11), and anterior lobe folliculo-stellate cells in 20/20 pituitary neoplasms (10). In medulloblastoma (MB) of the "desmoplastic variant", the antibody labeled 8/11 cases. The labeling appeared as focal areas of GFAP-labeled cells with neoplastic morphology. Only 4/31 MBs of the "classic variant" showed this type of neoplastic cells, but in classic MB GFAP-labeled cells with the morphology of reactive astrocytes were observed in 27/31 cases (12). The antibody has also been shown to label 15/38 schwannomas (38%), and 2 cases of plexiform neurofibroma, while 16 cases of dermal neurofibroma were non-reactive (13). In various neoplastic diseases of the breast, the percentage of myoepithelial cells reactive with the antibody was greatly increased as compared to the normal breast, while labeling was not encountered in the malignant cells of 183 breast carcinomas of different types (6).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Polyclonal Rabbit Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein est destiné à une utilisation en immunohistochimie (IHC). Cet anticorps est utile pour l'identification des astrocytes dans le système nerveux central (SNC). Les résultats facilitent la classification des néoplasmes d'origine astrocytaire/gliale (2-4). 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.

Résumé et explication

La GFAP est une protéine filamenteuse intracytoplasmique de 50 kDa constituant une partie du cytosquelette des astrocytes. Cette protéine est le marqueur le plus spécifique des cellules d'origine astrocytaire. Dans le domaine central en forme de bâtonnet de la molécule, la GFAP partage une homologie de structure considérable avec les autres filaments intermédiaires (5). D'un point de vue fonctionnel, on pense que la GFAP est importante dans la motilité et la forme des astrocytes en fournissant une stabilité structurale aux prolongements astrocytaires (1).

À la suite d'une lésion du SNC humain provoquée par un traumatisme, des troubles génétiques ou des produits chimiques, les astrocytes prolifèrent et présentent une hypertrophie extensive du corps cellulaire et des prolongements. De plus, la GFAP fait l'objet d'une régulation positive conséquente. À l'opposé, lors d'une malignité croissante des astrocytes, il existe une perte progressive de la production de GFAP (5).

En dehors du SNC, des méthodes de détection sensibles peuvent montrer la présence de GFAP dans les cellules de Schwann, dans les cellules gliales entériques, dans les néoplasmes des glandes salivaires et dans les carcinomes rénaux métastatiques. De plus, l'immunoréactivité de la GFAP a été démontrée dans le cartilage épiglottique, les pituicytes, les oligodendrocytes immatures, les méningiomes papillaires (1) et les cellules myoépithéliales du sein (6).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (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.

Réactif fourni

Fraction d'immunoglobuline purifiée à partir d'un antisérum de lapin et fournie sous forme liquide. Dans 0,1 mol/L de NaCl, 15 mmol/L de NaN₃, pH 7,2.

Concentration en protéines (en g/L) : Voir l'étiquette sur le flacon.

La variation du titre d'anticorps entre les différents lots, mesurée par immunodiffusion radiale simple, est inférieure à 10%. Ceci est obtenu en ajustant le titre de chaque lot pour le faire correspondre au titre d'une préparation de référence conservée à -80 °C.

Immunogène

GFAP isolée à partir de moelle épinière bovine.

Spécificité

L'anticorps a été absorbé en phase solide en utilisant des protéines de sérums humain et bovin.

Dans l'immunoélectrophorèse croisée avec 50 µL d'anticorps par cm² de gel, aucune réaction avec 2 µL de plasma humain et 2 µL de sérum bovin n'est observée. L'anticorps révèle un précipité net (GFAP) avec un extrait de cerveau bovin. Coloration : Coomassie Brilliant Blue.

Lors d'un test ELISA indirect, l'anticorps ne présente aucune réaction avec le plasma humain et le sérum bovin.

La GFAP présente 90 à 95% d'homologie entre espèces (5) et, comme le démontre l'immunocytochimie, l'anticorps réagit fortement avec la GFAP humaine.

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 par la protéinase K est recommandé car il permet une coloration plus nette et plus spécifique. La restauration d'épitope induite par la chaleur permet une dilution supérieure de l'anticorps mais tend à provoquer une coloration non spécifique. 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 (9) et des préparations cellulaires (7). Voir, cependant, le paragraphe "Limites spécifiques du produit" ci-dessous. 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 Polyclonal Rabbit Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein, réf. Z0334, peut être utilisé à une dilution de 1:500 lorsqu'il est appliqué sur des coupes de cerveau humain fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant un démasquage protéolytique des antigènes de 5 minutes avec la Dako Proteinase K, réf. S3020, et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Les conditions optimales peuvent varier en fonction de l'échantillon et de la méthode de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), réf. X0936, dilué à la même concentration en protéines que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité du système de test en cours ait été établie, il est recommandé de diluer le produit immédiatement avant utilisation ou de le diluer dans le produit Dako Antibody Diluent, réf. S0809.

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.

Visualisation : Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+ /HRP, par ex. réf. K4009. Suivre la procédure incluse dans le système de visualisation sélectionné.

Limitations spécifiques du produit

Dans les tissus congelés et fixés à l'acétone (9) et les tissus fixés pendant 4 à 12 heures dans le fixateur de Bouin ou de Lillie (8), il a été montré que l'anticorps marque certaines structures neuronales, incluant les axones, ce qui indique une réaction croisée avec les neurofilaments. Ceci n'a pas été observé avec les tissus fixés au formol.

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration limitée au cytoplasme.

Performances

Tissus sains : L'anticorps marque les astrocytes dans le cerveau (3), les cellules folliculo-stellaires de l'hypophyse (10), les cellules de Schwann et les cellules gliales entériques. De plus, les cellules myoépithéliales du sein (6) et de la glande parotide (9) sont marquées. Aucune coloration n'est observée dans la peau humaine, le tissu conjonctif, le tissu lymphatique, le muscle, le foie, le pancréas, l'uretère et la vessie.

Tissus anormaux : Les 23 glioblastomes multiformes (GBM) ont été marqués par l'anticorps. Dans 20 cas sur 23 de GBM, au moins 50% des cellules malignes étaient marquées. Seulement 3 cas sur 22 de carcinome avec métastases cérébrales ont été marqués. Ce marquage était localisé et limité à moins de 10% des cellules malignes (3). 5 cas sur 5 d'astrocytomes hémisphériques de type granulaire rare ont présenté un marquage localisé à la GFAP avec l'anticorps (4). L'anticorps a également marqué 7 cas sur 7 de xanthoastrocytomes polymorphes (11), et a marqué des cellules folliculo-stellaires du lobe antérieur dans 20 cas sur 20 de néoplasmes pituitaires (10). L'anticorps a marqué 8 cas sur 11 de médulloblastome (MB) "de type desmoplasiq". Le marquage est apparu sous forme de zones localisées dans les cellules de morphologie néoplasique marquées à la GFAP. Seulement 4 cas sur 31 de MB "de type classique" ont montré ce type de cellules néoplasiques, mais des cellules à morphologie d'astrocytes réactifs, marquées à la GFAP, ont été observées dans 27 cas sur 31 de MB classique (12). L'anticorps a également marqué 15 cas sur 38 de schwannomes (38%) et 2 cas de neurofibrome plexiforme alors que 16 cas de neurofibrome dermique étaient non réactifs (13). Dans diverses maladies néoplasiques du sein, le pourcentage de cellules myoépithéliales réactives à l'anticorps a été considérablement augmenté par rapport au sein normal, alors qu'aucun marquage n'a été rencontré dans les cellules malignes de 183 carcinomes du sein de types différents (6).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Polyclonal Rabbit Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Dieser Antikörper dient zur Erkennung von Astrozyten im zentralen Nervensystem (ZNS). Die Ergebnisse unterstützen die Klassifizierung von Neoplasmen astrozytischen/glialen Ursprungs (2-4). 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

GFAP ist ein intrazytoplasmatisches Filamentprotein, das am Aufbau des Zytoskeletts von Astrozyten beteiligt ist, und erwiesenermaßen der spezifischste Marker für Zellen astrozytischen Ursprungs. Im Zentralbereich des Moleküls weist GFAP beträchtliche strukturelle Übereinstimmungen mit den anderen Intermediärfilament-Proteinen auf (5). Was seine Funktion angeht, so wird angenommen, dass GFAP eine wichtige Rolle hinsichtlich Beweglichkeit und Form der Astrozyten spielt, indem es den astrozytischen Prozessen strukturelle Stabilität verleiht (1).

Nach einer durch ein Trauma, genetische Defekte oder Chemikalien hervorgerufenen Schädigung des menschlichen ZNS proliferieren Astrozyten und weisen eine extensive Hypertrophie des Zellkörpers und der Zellprozesse auf und GFAP wird deutlich nach oben reguliert. Im Gegensatz nimmt die GFAP-Produktion mit zunehmender Astrozyten-Malignität immer weiter ab (5).

Außerhalb des ZNS lässt sich GFAP mit empfindlichen Detektionsmethoden in Schwann-Zellen, enterischen Gliazellen, Speicheldrüsenneoplasmen und metastasierenden Nierenkarzinomen nachweisen. Ferner wurde GFAP-Immunreaktivität in Epiglottis, Pituzyten, unreifen Oligodendrozyten, papillären Meningiomen (1) und Myoepithelzellen der Brust (6) nachgewiesen.

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

Gereinigte Kaninchenantiserum-Immunglobulinfraktion in flüssiger Form. In 0.1 mol/L NaCl, 15 mmol/L NaN₃, pH 7.2.

Proteinkonzentration g/L: Siehe Behälteretikett.

Die Antikörper-Titerabweichung zwischen verschiedenen Chargen beträgt weniger als 10%. gemäß der Messung durch einfache radiale Immundiffusion. Dieses wird erreicht, indem der Titer jeder einzelnen Charge dem Titer eines bei -80 °C aufbewahrten Referenzpräparats angeglichen wird.

Immunogen

Aus dem Rückenmark von Rindern isoliertes GFAP.

Spezifität

Der Antikörper wurde einer Festphasen-Absorption mit Serumproteinen vom Menschen und von Rindern unterzogen.

Bei der gekreuzten Immunelektrophorese unter Verwendung von 50 µL Antikörper per cm² Gelfläche wurde keine Reaktion mit 2 µL menschlichem Plasma und 2 µL Rinderserum beobachtet. Bei Rinderhirnextrakt weist der Antikörper ein klar ersichtliches Präzipitat (GFAP) auf. Färbung: Coomassie Brilliantblau.

Beim indirekten ELISA-Verfahren zeigt der Antikörper keine Reaktion mit Humanplasma und Rinderserum.

GFAP ist von Spezies zu Spezies zu 90-95% homolog (5) und weist, wie immunzytochemisch belegt wurde, starke Kreuzreaktionen mit humanem GFAP auf.

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.

Gewebevorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Die Vorbehandlung entparaffinierter Gewebe durch Proteinase K wird empfohlen, da hiermit die kontrastreichste, spezifischste Färbung erzielt wird. Eine hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ermöglicht eine stärkere Verdünnung des Antikörpers, kann jedoch eine unspezifische Färbung verursachen. Während der Gewebevorbereitung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und Zellpräparate: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von Gefrierschnitten (9) und Zellpräparaten (7). Siehe jedoch „Produktspezifische Beschränkungen“ unten. 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: Polyclonal Rabbit Anti Glial Fibrillary Acidic Protein, Code-Nr. Z0334, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von humanem Gehirngewebe bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 5 Minuten in Dako Proteinase K, Code-Nr. S3020, und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur bei einer Verdünnung von 1:500 verwendet werden. Optimale Bedingungen können je nach Probe und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Als Negativkontrolle wird Dako Rabbit Immunglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), Code-Nr. X0936, empfohlen, das auf dieselbe Proteinkonzentration wie der Primäranantikörper zu verdünnen ist. Falls die Stabilität im verwendeten Testsystem noch nicht ermittelt worden ist, wird empfohlen, das Produkt unmittelbar vor Verwendung bzw. mit Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, zu verdünnen.

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

Detektionssystem: Dako EnVision+ /HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4009) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Visualisierungssystem beschriebene Verfahren befolgen.

Produktspezifische Beschränkungen

In azetonfixierten Gefrierschnitten (9) und in Bouin- oder Lillie-Lösung fixierten Gewebeschnitten (4-12 Stunden) (8) markiert der Antikörper erwiesenermaßen bestimmte Neuronenstrukturen, darunter Axone, was auf eine Kreuzreaktion mit Neurofilament hindeutet. Dies wurde bei formalinfixierten Gewebeschnitten nicht beobachtet.

Auswertung der Färbung

Vom Antikörper markierte Zellen weisen eine auf das Zytoplasma beschränkte Färbung auf.

Leistungseigenschaften









Normalgewebe: Der Antikörper markiert Astrozyten im Gehirn (3), Follikelsternzellen der Hypophyse (10), Schwann-Zellen und enterische Gliazellen. Zudem werden Myoepithelzellen der Brust (6) und Parotis (9) markiert. Bei menschlicher Haut, Bindegewebe, lymphatischem Gewebe, Muskeln, Leber, Pankreas, Harnleiter und Blase ist keine Färbung zu beobachten.

Anormale Gewebe: Alle 23 Glioblastome (GBM) wurden durch den Antikörper markiert. Bei 20 der insgesamt 23 GBM wurden mindestens 50% der malignen Zellen markiert. Nur 3 von 22 Fällen von Karzinomen, die Metastasen im Gehirn bildeten, wurden markiert. Diese Markierung war fokal und auf weniger als 10% der malignen Zellen beschränkt (3). 5/5 hemisphärischen Astrozytomen des seltenen granulären Typs ergaben bei dem Antikörper eine fokale GFAP-Markierung (4), und der Antikörper markierte auch 7/7 pleomorphen Xanthoastrozytomen (11) und Follikelsternzellen des Hypophysenvorderlappens in 20/20 Hypophysenneoplasmen (10). Bei Medulloblastomen (MB) der „desmoplastischen Variante“ markierte der Antikörper 8/11 Fällen. Die Markierung zeigt sich in Form fokaler Bereiche von GFAP-markierter Zellen mit neoplastischer Morphologie. Nur 4/31 MB der „klassischen Variante“ wiesen diesen Typ von neoplastischen Zellen auf, aber bei klassischen MB wurden in 27/31 Fällen GFAP-markierte Zellen mit der Morphologie von reaktiven Astrozyten beobachtet (12). Es zeigte sich auch, dass der Antikörper 15/38 Schwannomen (38%) und 2 Fälle von plexiformen Neurofibromen markierte, während 16 Fälle von dermalemen Neurofibrom nicht reaktiv waren (13). Bei verschiedenen neoplastischen Erkrankungen der Brust war der Prozentsatz der mit dem Antikörper reaktiven Myoepithelzellen verglichen mit der normalen Brust stark erhöht, während bei den malignen Zellen von 183 Brustkarzinomen unterschiedlichen Typs keine Markierung erfolgte (6).

References/ Références/ Literatur

1. Eng LF, Ghimikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969-2000). *Neurochem Res* 2000;25:1439-51.
2. Reske-Nielsen E, Oster S, Reintoft I. Astrocytes in the prenatal central nervous system. *Acta path microbiol immunol scand Sect. A* 1987;95:339-46.
3. Oh D, Prayson RA. Evaluation of epithelial and keratin markers in glioblastoma multiforme. An immuno-histochemical study. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123:917-20.
4. Geddes JF, Thom M, Robinson SFD, Revesz T. Granular cell change in astrocytic tumors. *Am J Surg Pathol* 1996;20:55-63.
5. Rutka JT, Murakami M, Dirks PB, Hubbard SL, Becker LE, Fukuyama K, et al. Role of glial filaments in cells and tumors of glial origin: a review. *J Neurosurg* 1997;87:420-30.
6. Viale G, Gambacorta M, Coggi G, Dell'Orto P, Milani M, Dogliani C. Glial fibrillary acidic protein immunoreactivity in normal and diseased human breast. *Virchows Arch A Pathol Anat* 1991;418:339-48.
7. Castellano B, Gonzales B, Jensen MB, Pedersen EB, Finsen BR, Zimmer J. A double staining technique for simultaneous demonstration of astrocytes and microglia in brain sections and astroglial cell cultures. *J Histochem Cytochem* 1991;39:561-8.
8. Hansen SH, Stagaard M, Møllgård K. Neurofilament-like pattern of reactivity in human foetal PNS and spinal cord following immunostaining with polyclonal anti-glial fibrillary acidic protein antibodies. *J Neurocytol* 1989;18:427-36.
9. Achtstätter T, Moll R, Anderson A, Kuhn C, Pitz S, Schwechheimer K, et al. Expression of glial filament protein (GFP) in nerve sheaths and non-neural cells re-examined using monoclonal antibodies, with special emphasis on the co-expression of GFP and cytokeratins in epithelial cells of human salivary gland and pleomorphic adenomas. *Differentiation* 1986;31:206-27.
10. Morris CS, Hitchcock E. Immunocytochemistry of folliculo-stellate cells of normal and neoplastic human pituitary gland. *J Clin Pathol* 1985;38:481-8.
11. Powell SZ, Yachnis AT, Rorke LB, Rojiani AM, Eskin TA. Divergent differentiation in pleomorphic xantho-astrocytoma. Evidence for a neuronal element and possible relationship to ganglion cell tumors. *Am J Surg Pathol* 1996;20:80-5.
12. Giangaspero F, Chieco P, Ceccarelli C, Lisignoli G, Pozzuoli R, Gambacorta M, et al. "Desmoplastic" versus "classic" medulloblastoma: comparison of DNA content, histopathology and differentiation. *Virchows Arch A Pathol Anat* 1991;418:207-14.
13. Kawahara E, Oda Y, Ooi A, Katsuda S, Nakanishi I, Umeda S. Expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in peripheral nerve sheath tumors. A comparative study of immunoreactivity of GFAP, vimentin, S-100 protein, and neurofilament in 38 schwannomas and 18 neurofibromas. *Am J Surg Pathol* 1988;12:115-20.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

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



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

Revision / Révision / Revision 2020.11