

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
N-Cadherin
Clone 6G11**

ENGLISH
Code M3613

Intended use

For In Vitro Diagnostic Use.

This antibody is intended for laboratory use to identify qualitatively by light microscopy N-cadherin expressing cells in normal and neoplastic tissues using immunohistochemical (IHC) test methods. Positive results aid in the classification of mesotheliomas.²⁻⁴ Differential identification is aided by the results from a panel of antibodies. Interpretation must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Synonym

Nerve cadherin, Neural-type cadherin (NCAD)

Summary and explanation

N-cadherin is a 140 kD protein that belongs to a family of transmembrane molecules that mediate calcium-dependent intercellular adhesion. Cadherins are involved in controlling morphogenetic movements during development and regulate cell surface adhesion through homotypic adhesion with the same cadherin species. N-cadherin's function is dependent on its association with the actin-cytoskeleton, which is mediated through interactions between the C-terminal region of N-cadherin and the cytoplasmic catenin proteins. The stability of this association is regulated by phosphorylation and dephosphorylation of β -catenin.^{5,6}

Expression of N-cadherin has been reported on a variety of normal tissues including neuronal, endothelial and muscle cells and a subpopulation of early hematopoietic progenitor cells.⁷ Among neoplastic tissues, N-cadherin expression has been demonstrated in malignant noncarcinomatous neoplasms including mesotheliomas,^{2-4,8} chordomas, synovial sarcomas, malignant melanomas, epithelioid sarcomas, epithelioid angiosarcomas and clear cell sarcomas.⁸ Serous and endometrioid tumors of the ovary have been demonstrated to be N-cadherin positive whereas mucinous tumors are negative.⁹ Other N-cadherin positive neoplasms include renal cell carcinomas and some variant breast tumors including medullary breast carcinomas and sarcomatoid metaplastic breast carcinomas.^{10,11}

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Anti-N-cadherin is provided as tissue culture supernatant (containing fetal bovine serum) dialyzed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and 0.015 mol/L sodium azide. Contains stabilizing protein.

Clone: 6G11¹ Isotype: IgG₁, kappa
Mouse IgG concentration mg/L: See label on vial.

M3613 may be used at a dilution 1:50 when performing IHC using the EnVision+™ detection system. These are guidelines only. Optimal antibody concentrations may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined individually in each laboratory.

Immunogen

Synthetic peptide corresponding to human N-cadherin amino acids 878-905¹

Specificity

Clone 6G11 is specific to the peptide used for immunization and is unreactive with the KLH carrier protein. The sequence used for immunization is homologous among human, mouse, rat and chicken N-cadherin proteins. The sequence has no homology to other cadherin proteins such as E-cadherin, P-cadherin, Cadherin-6, Cadherin-12 or to the catenins (alpha, beta or gamma-catenin).¹

Materials required, but not supplied

Refer to the "General Instructions for Immunohistochemical Staining" and/or the Detection System "Instructions". Suggested diluent(s) for IHC procedures:

Antibody Diluent (code S0809)

The following negative control is recommended for IHC procedures:

Mouse IgG₁ (code X0931)

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, NaN₃ 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.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused reagents should be disposed of according to local, State, and Federal regulations.

Storage

Store at 2–8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation

Paraffin Sections

Anti-N-Cadherin can be used on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Pretreatment of tissue with proteolytic enzymes is not recommended.

The deparaffinized tissue sections must be treated with heat prior to the IHC staining procedure. Heat-induced epitope retrieval (HIER) involves immersion of tissue sections in a pre-heated buffer solution and maintaining heat, either in a water bath or steamer (95–99 °C), or a pressure cooker (121 °C). For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Silanized Slides (code S3003) is recommended. Target Retrieval Solution (code S1700) or 10x Concentrate (code S1699) is recommended using a 40-minute heating protocol for HIER performed at 95–99 °C. After thermal treatment, allow the jar with buffer and slides to cool for 20 minutes at room temperature. Rinse well with buffer or deionized water. Optimal HIER incubation times at temperatures greater than 99 °C should be determined by each individual laboratory.

Cryostat Sections And Cell Smears

Anti-N-Cadherin can be used for labelling acetone-fixed cryostat sections or fixed cell smears.

Prior to IHC staining, tissues must be fixed and processed. Fixation prevents autolysis and putrefaction of excised tissues, preserves antigenicity, enhances the refractive index of tissue constituents and increases the resistance of cellular elements to tissue processing. Tissue processing includes dehydration, clearing of dehydrating agents, infiltration of embedding media, embedding and sectioning of tissues. The most common fixatives for IHC tissue preparations are discussed in the "General Instructions for Immunohistochemical Staining". These are guidelines only. Optimal procedures must be determined and verified by the user.

Staining procedure

Follow the recommended procedure for the detection system selected.

Staining interpretation

The cellular staining pattern for anti-N-cadherin is membrane and cytoplasmic.

Performance characteristics

Normal tissues¹²

Anti-N-cadherin strongly immunostains ganglion cells and nerve in many normal tissue types.

Tissue Type (# tested)	Positively Staining Tissue Elements
Adrenal (3)	3/3 membrane and cytoplasm of adrenal cortical and adrenal medulla cells
Brain, cerebellum (3)	3/3 diffuse staining of neuropil and membrane of Purkinje cells
Brain, cerebrum (3)	3/3 diffuse staining of neuropil
Stomach (3)	3/3 membrane and cytoplasm of chief, parietal and oxyphil cells
Endometrium (3)	3/3 membrane and cytoplasm of endometrial glands and cytoplasm of endometrial stromal cells
Kidney (3)	3/3 membrane and cytoplasm of renal tubule epithelium
Ovary (3)	1/3 membrane and cytoplasm of surface epithelial cells and inclusion cysts epithelium
Pancreas (3)	3/3 membrane and cytoplasm of acinar cells
Pituitary (3)	3/3 diffuse staining of cell processes in neurohypophysis and membrane and cytoplasm of pituicytes in adenohypophysis
Heart (3)	3/3 cell junction and cytoplasm of 100% of myocytes
Liver (3)	3/3 membrane and cytoplasm of hepatocytes and membrane of bile duct epithelium
Spleen (3)	3/3 membrane and cytoplasm of splenic sinuses
Testis (3)	3/3 membrane and cytoplasm of 100% of sertoli cells, spermatogonia and seminiferous tubules
Tonsil (3)	3/3 cytoplasm germinal center cells
Parathyroid (3)	3/3 membrane and cytoplasm of chief cells
Skeletal Muscle (3)	0/3
Colon (3)	0/3
Esophagus (3)	0/3
Lung (3)	0/3
Skin (3)	0/3
Bone Marrow (3)	0/3
Breast (3)	1/3 membrane of ductal epithelial cells (1 duct)
Cervix (3)	0/3
Prostate (3)	0/3
Thymus (3)	0/3
Mesothelial Cells (3)	0/3
Nerve, peripheral (3)	0/3

Salivary Gland (3)	0/3
Small Intestine (3)	0/3
Thyroid (3)	0/3

FRANÇAIS

Réf. M3613

Utilisation prévue

Pour utilisation en diagnostic in vitro.

Cet anticorps est conçu pour être utilisé en laboratoire en vue de l'identification qualitative par microscopie optique des cellules exprimant la N-cadherin (N-cadhérine) dans les tissus sains et néoplasiques en utilisant des méthodes immunohistochimiques (IHC). Une positivité aide à la classification des mésothéliomes.²⁻⁴ Le diagnostic différentiel est facilité par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation doit tenir compte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques réalisés par un pathologiste qualifié.

Synonyme

Cadhérine nerveuse, cadhérine de type neural

Résumé et explications

La N-cadherin (N-cadhérine) est une protéine de 140 kD appartenant à une famille de molécules transmembranaires qui intervient dans l'adhésion intercellulaire dépendante du calcium. Les cadhérines sont impliquées dans le contrôle des mouvements morphogénétiques pendant le développement et régulent l'adhésion à la surface cellulaire via l'adhésion homotype avec les mêmes espèces de cadhérine. La fonction de la N-cadherin (N-cadhérine) dépend de son association au cytosquelette d'actine, qui est facilitée par des interactions entre la région C-terminale de la N-cadherin (N-cadhérine) et les protéines de caténine cytoplasmique. La stabilité de cette association est régulée par phosphorylation et déphosphorylation de l' α -caténine.^{5,6}

L'expression de la N-cadherin (N-cadhérine) a été observée sur divers tissus sains notamment les tissus neuronaux, endothéliaux et les cellules musculaires et une sous-population de progéniteurs hématopoïétiques.⁷ Parmi les tissus néoplasiques, l'expression de la N-cadherin (N-cadhérine) a été démontrée dans les néoplasmes non carcinomateux malins, notamment les mésothéliomes^{2-4, 8}, les chordomes, les sarcomes synoviaux, les mélanomes malins, les sarcomes épithélioïdes, les angiosarcomes épithélioïdes et les sarcomes de cellules claires.⁸ Les tumeurs graves et endométrioïdes de l'ovaire se sont révélées positives à la N-cadherin (N-cadhérine) alors que les tumeurs mucineuses sont négatives.⁹ D'autres néoplasmes positifs à la N-cadherin (N-cadhérine) incluent les carcinomes à cellules rénales et certaines tumeurs mammaires comprenant notamment les carcinomes mammaires médullaires et les carcinomes mammaires métaplasiques sarcomatoïdes.^{10,11}

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection concernant les procédures IHC pour : 1) Principe de procédure, 2) Matériaux requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

L'anti-N-cadhérine est fourni sous forme de surnageant de culture tissulaire (contenant du sérum bovin fœtal) dialysé en utilisant 0,05 mol/L de tampon Tris-HCl, de pH 7,2, et 0,015 mol/L d'azide de sodium. Contient une protéine stabilisante.

Clone: 6G11¹ Isotype: IgG₁, kappa

Concentration des IgG de souris en mg/l : Voir l'étiquette sur le flacon.

Le M3613 peut être utilisé à une dilution de 1:50 lors de la procédure IHC faisant appel au système de détection EnVision+TM. Il ne s'agit là que de conseils. Les concentrations d'anticorps optimales peuvent varier en fonction de l'échantillon et de la méthode de préparation et doivent être déterminées par chaque laboratoire de manière indépendante.

Immunogène:

Peptide de synthèse correspondant aux acides aminés de la N-cadhérine humaine 878-905¹

Spécificité

Le clone 6G11 est spécifique au peptide utilisé pour l'immunisation et n'est pas réactif à la protéine de transport KLH. La séquence utilisée pour l'immunisation est homologue, qu'il s'agisse de protéines N-cadherin (N-cadhérine) humaine, de souris, de rat ou de poule. La séquence n'a pas d'homologie avec d'autres protéines cadhérines telles la E-cadhérine, la P-cadhérine, la cadhérine-6, la cadhérine-12 ni avec les caténines (caténines alpha, bêta ou gamma).¹

Matériels requis mais non fournis

Se référer aux *Dako's Instructions Générales relatives à la procédure de Marquage Immunohistochimique* et/ou aux instructions du système de détection. Diluant(s) recommandé(s) pour les procédures IHC :

Antibody Diluent (Diluant d'anticorps) (réf. S0809)

Le contrôle négatif suivant est recommandé pour les procédures IHC :

Mouse IgG₁ (IgG₁ de souris) (réf. X0931).

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. 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, le NaN₃ peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les réactifs non utilisés doivent être éliminés conformément aux réglementations locales et nationales.

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'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que des échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons

Coupes en paraffine

L'anti-N-cadhérine peut être utilisé sur des coupes de tissus fixés au formol et inclus en paraffine. Le prétraitement des tissus par des enzymes protéolytiques n'est pas recommandé.

Les coupes de tissus déparaffinées doivent être traitées à la chaleur avant de démarrer la procédure de coloration (IHC). La restauration de l'épitope par la chaleur (HIER) implique l'immersion des coupes de tissus dans une solution tampon préchauffée et le maintien de la chaleur, soit dans un bain-marie ou un incubateur (95-99 °C), soit dans un autocuiseur (121 °C). Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des Silanized Slides (lames silanisées) (réf. S3003). La Target Retrieval Solution (Solution de restauration des cibles) (réf. S1700) ou le 10x Concentrate (Concentré 10x) (réf. S1699) sont recommandés lors d'un protocole de chauffage de 40 minutes pour la procédure HIER à 95–99 °C. Après traitement thermique, laisser la cuve contenant le tampon et les lames refroidir pendant 20 minutes à température ambiante. Rincer abondamment à l'aide de tampon ou d'eau déionisée. Les temps d'incubation optimaux pour la procédure HIER à des températures supérieures à 99 °C doivent être déterminés par chaque laboratoire.

Coupes cryostat et frottis cellulaires

L'anti-N-cadhérine peut être utilisé pour des coupes cryostat fixées à l'acétone ou des frottis cellulaires fixés.

Avant la coloration IHC, les tissus doivent être fixés et traités. Leur fixation évite l'autolyse et la putréfaction des tissus excisés, préserve l'antigénicité, améliore l'indice de réfraction des composants tissulaires et accroît la résistance des éléments cellulaires au traitement des tissus. Le traitement des tissus inclut la déshydratation, l'élimination des agents déshydratants, l'infiltration du milieu d'inclusion, l'inclusion et la coupe des tissus. Les fixateurs les plus courants pour la préparation IHC des tissus sont présentés dans les "General Instructions for Immunohistochemical Staining" (« Instructions générales de coloration immunohistochimique »). Il ne s'agit là que de conseils. Les procédures optimales doivent être déterminées et vérifiées par l'utilisateur.

Procédure de coloration

Suivre la procédure recommandée pour le système de détection sélectionné.

Interprétation de la coloration

La localisation du marquage avec l'anti-N-cadhérine est membranaire et cytoplasmique.

Caractéristiques de performance

Tissus sains¹²

L'anti-N-cadhérine colore fortement les cellules ganglionnaires et nerveuses dans de nombreux types de tissus sains.

Type de tissus (nbre testé)	Éléments de tissus colorés positivement
Surrénale (3)	3/3 membrane et cytoplasme de cellules corticosurrénales et médullosurrénales
Cerveau, cervelet (3)	3/3 coloration diffuse du neuropile et de la membrane des cellules de Purkinje
Cerveau, cerebrum (3)	3/3 coloration diffuse du neuropile
Estomac (3)	3/3 membrane et cytoplasme de cellules principales, pariétales et oxyphiles
Endomètre (3)	3/3 membrane et cytoplasme des glandes endométriales et cytoplasme des cellules stromales endométriales
Rein (3)	3/3 membrane et cytoplasme de l'épithélium tubulaire rénal
Ovaire (3)	1/3 membrane et cytoplasme des cellules épithéliales de surface et épithélium des kystes d'inclusion
Pancréas (3)	3/3 membrane et cytoplasme de cellules acinaires
Hypophyse (3)	3/3 coloration diffuse des processus cellulaires de la neurohypophyse et membrane et cytoplasme de pituicytes de l'adénohypophyse
Cœur (3)	3/3 jonction cellulaire et cytoplasme de 100 % des myocytes
Foie (3)	3/3 membrane et cytoplasme des hépatocytes et membrane de l'épithélium du canal biliaire
Rate (3)	3/3 membrane et cytoplasme de sinus spléniques
Testicule (3)	3/3 membrane et cytoplasme de 100 % des cellules de Sertoli, spermatogonies et tubes séminifères

Amygdale (3)	3/3	cytoplasme de cellules du centre germinatif
Parathyroïde (3)	3/3	membrane et cytoplasme de cellules principales
Muscle squelettique (3)	0/3	
Côlon (3)	0/3	
Œsophage (3)	0/3	
Poumon (3)	0/3	
Peau (3)	0/3	
Moelle osseuse (3)	0/3	
Sein (3)	1/3	membrane des cellules épithéliales canalaire (1 canal)
Col de l'utérus (3)	0/3	
Prostate (3)	0/3	
Thymus (3)	0/3	
Cellules mésothéliales (3)	0/3	
Nerf périphérique (3)	0/3	
Glande salivaire (3)	0/3	
Intestin grêle (3)	0/3	
Thyroïde (3)	0/3	

DEUTSCH

Code M3613

Verwendungszweck

Zur In-vitro Diagnostik.

Dieser Antikörper dient Laborzwecken, um mit Lichtmikroskopie anhand immunohistochemischer (IHC) Testmethoden N-Cadherin exprimierende Zellen in normalem und neoplastischem Gewebe qualitativ nachzuweisen. Positive Ergebnisse tragen zur Klassifizierung von Mesotheliomen bei.²⁻⁴ Die Identifizierung wird anhand der Ergebnisse des Antikörper-Panels unterstützt. Auswertungen müssen von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.

Synonym

Neural-Cadherin, (NCAD)

Zusammenfassung und Erklärung

N-Cadherin ist ein 140 kD Protein, das zur einer Familie transmembraner Moleküle gehört, die kalziumabhängige interzelluläre Adhäsion vermittelt. Cadherine tragen zur Steuerung morphogenetischer Bewegungen während der Entwicklung bei und regulieren die Zelloberflächenadhäsion durch die homotypische Adhäsion mit derselben Cadherinspezies. Die Funktion von N-Cadherin hängt von seiner Verbindung mit dem Aktin-Zytoskelett ab, die durch Interaktionen zwischen der C-terminalen Region von N-Cadherin und des zytoplasmatischen Catenin-Proteins vermittelt wird. Die Stabilität dieser Verbindung wird durch Phosphorylierung und Dephosphorylierung von β -Catenin reguliert.^{5, 6}

Die N-Cadherin-Expression wurde bei verschiedenen normalen Gewebetypen beobachtet, z.B. neuronalen und endothelialen Muskelzellen und einer Subpopulation früher hämopoetischer Vorläuferzellen.⁷ Unter neoplastischen Geweben wurde die N-Cadherin-Expression in malignen nicht-karzinomartigen Neoplasmen nachgewiesen, wie Mesotheliomen^{2, 4, 8}, Chordomen, Synovialsarkomen, malignen Melanomen, Epitheloidsarkomen, Epitheloidangiosarkomen und klarzelligem Sarkomen.⁸ Serumhaltige und endometrioiden Tumore der Eierstöcke erwiesen sich als N-Cadherin positiv, während muzinöse Tumore negativ sind.⁹ Zu anderen N-Cadherin positiven Neoplasmen gehören Nierenkarzinome und einige Brusttumore wie medulläre Brustkarzinome und metaplastische Brustkarzinome.^{10, 11}

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunohistochemischen Färbung* von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzipien, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlerbehebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Mitgelieferte Reagenzien

Anti-N-Cadherin wird als Gewebekulturüberstand (mit fötalem Rinderserum) geliefert, der gegen 0,05 mol/L Tris-HCl, pH 7,2 und 0,015 mol/L Natriumazid dialysiert wurde. Enthält Proteine zur Stabilisierung.

Klon: 6G11¹ Isytop: IgG₁, kappa
Konzentration Maus-IgG mg/l: Siehe Fläschchenetikett.

M3613 kann in der IHC mit dem EnVision+™ Detektionssystem bei einer Verdünnung von 1:50 verwendet werden. Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Antikörperkonzentrationen können je nach Probe und Vorbereitungsmethode unterschiedlich sein und sollten von jedem Labor selbst bestimmt werden.

Immunogen

Synthetisches Peptid, entsprechend der Human-N-Cadherin Aminosäuren 878-905¹

Spezifität

Klon 6G11 ist spezifisch für das zur Immunisierung verwendete Peptid und ist mit dem KLH-Trägerprotein unreaktiv. Die zur Immunisierung verwendete Sequenz ist in Human-, Maus-, Ratten- und Huhn-N-Cadherin-Proteinen homolog. Die Sequenz hat keine Homologie zu anderen Cadherin-Proteinen wie E-Cadherin, P-Cadherin, Cadherin-6, Cadherin-12 oder den Cateninen (alpha, beta oder gamma-Catenin).¹

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Siehe *Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako und/oder Anweisungen des Detektionssystems. Empfohlene Verdünnungsmittel für IHC-Verfahren:

Antibody Diluent (Code S0809)

Die folgende Negativkontrolle wird für IHC-Verfahren empfohlen:

Mouse IgG₁ (Code X0931)

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von NaN₃ können auch in Konzentrationen, die nicht als gefährlich klassifiziert sind, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Entsprechende Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Aufbewahrung

Bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Vorbereitung der Probe

Paraffinschnitte

Anti-N-Cadherin kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Eine Vorbehandlung des Gewebes mit proteolytischen Enzymen wird nicht empfohlen.

Vor dem IHC-Färbeverfahren müssen die entparaffinierten Gewebeschnitte mit Hitze behandelt werden. Zur hitzeinduzierten Epitopdemaskierung (heat-induced epitope retrieval, HIER) gehört ein Eintauchen der Gewebeschnitte in eine vorgewärmte Pufferlösung und Wärmeerhaltung in einem Wasser- oder Dampfbad (95–99 °C) oder einem Dampfdrucktopf (121 °C). Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträger wird die Verwendung von Silanized Slides (Code S3003) empfohlen. Die Verwendung von Target Retrieval Solution (Code S1700) oder 10x Concentrate (Code 1699) wird bei einem 40-Minuten-Wärmeprotokoll für eine bei 95–99 °C durchgeführte HIER empfohlen. Das Gefäß mit Puffer und Objektträgern nach der Hitzebehandlung 20 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen. Gründlich mit Puffer oder entionisiertem Wasser spülen. Optimale Inkubationszeiten für HIER-Verfahren bei Temperaturen, die über 99 °C liegen, sollten von jedem Labor selbst bestimmt werden.

Gefrierschnitte und Zellausstriche

Anti-N-Cadherin kann zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten und Zellausstrichen verwendet werden.

Vor der IHC-Färbung muss das Gewebe fixiert und verarbeitet werden. Eine Fixierung schützt vor Autolyse und Zerfall des exzidierten Gewebes, behält die Antigenität bei, verstärkt den Refraktionsindex der Gewebeteile und stärkt die Resistenz der Zellelemente gegen Gewebeverarbeitung. Zur Gewebeverarbeitung gehören Dehydrierung, Entfernung von Dehydrierungsmitteln, Infiltration des Einbettungsmediums, Einbetten und Schneiden des Gewebes. Die am häufigsten verwendeten Fixiermittel für IHC-Gewebepreparationen werden unter „General Instructions for Immunohistochemical Staining“ angeführt. Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Verfahren müssen vom Anwender bestimmt und überprüft werden.

Färbeverfahren

Das empfohlene Verfahren des ausgewählten Detektionssystems befolgen.

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster für Anti-N-Cadherin liegt in der Membran und im Zytoplasma.

Leistungsmerkmale

*Normales Gewebe*¹²

Anti-N-Cadherin erzeugt eine kräftige Immunofärbung in Ganglienzellen und Nerven in vielen normalen Gewebetypen.

Gewebetyp (Anz. getestet)	Gewebeelemente mit positiver Färbung
Adrenal (3)	3/3 Membran und Zytoplasma von Nebennierenrinden- und Nebennierenmarkzellen
Gehirn, Zerebellum (3)	3/3 diffuse Färbung von Nervenfilz und Membran von Purkinje-Zellen
Gehirn, Zerebellum (3)	3/3 diffuse Färbung des Nervenfilz
Magen (3)	3/3 Membran und Zytoplasma von Haupt-, Parietal- und oxyphilen Zellen
Endometrium (3)	3/3 Membran und Zytoplasma von Endometriumdrüsen und Zytoplasma endometrialer Stromazellen
Niere (3)	3/3 Membran und Zytoplasma des Epithels der Nierentubuli
Eierstock (3)	1/3 Membran und Zytoplasma von Oberflächenepithelzellen und Einschlusszystenepithelzellen
Pankreas (3)	3/3 Membran und Zytoplasma von Azinuszellen
Hypophyse (3)	3/3 diffuse Färbung von Zellvorgängen in der Neurohypophyse und der Membran und dem Zytoplasma von Pituizyten in der Adenohypophyse





Herz (3)	3/3	Zellverbindungen und Zytoplasma von 100 % der Myozyten
Leber (3)	3/3	Membran und Zytoplasma von Hepatozyten und Membran des Gallengangepitheliums
Milz (3)	3/3	Membran und Zytoplasma von Milzsinus
Hoden (3)	3/3	Membran und Zytoplasma von 100 % der Sertoli-Zellen, Spermatozoen und Hodenkanälchen
Mandeln (3)	3/3	Keimzentrumzellen des Zytoplasmas
Nebenschilddrüse (3)	3/3	Membran und Zytoplasma von Hauptzellen
Skelettmuskel (3)	0/3	
Darm (3)	0/3	
Ösophagus (3)	0/3	
Lunge (3)	0/3	
Haut (3)	0/3	
Knochenmark (3)	0/3	
Brust (3)	1/3	Membran duktaler Epithelzellen (1 Gang)
Zervix (3)	0/3	
Prostata (3)	0/3	
Thymus (3)	0/3	
Mesothelzellen (3)	0/3	
Nerv, peripher (3)	0/3	
Speicheldrüse (3)	0/3	
Dünndarm (3)	0/3	
Schilddrüse (3)	0/3	

References

Bibliographie

Literatur

- Report on File
- Abutally AS, Addis BJ, Roche WR. Immunohistochemistry in the distinction between malignant mesothelioma and pulmonary adenocarcinoma: a critical evaluation of new antibodies. J Clin Pathol. 2002; 55(9):662
- Thirkettle I, Harvey P, Hasleton PS, Ball RY, Warn RM. Immunoreactivity for cadherins, HGF/SF, met, and erbB-2 in pleural malignant mesotheliomas. Histopathology. 2000; 36(6):522
- Han AC, Peralta Soler A, Knudsen KA, Wheelock MJ, Johnson KR, Salazar H. Differential expression of N-cadherin in pleural mesotheliomas and E-cadherin in lung adenocarcinomas in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. Hum Pathol. 1997; 28(6):641
- Takeichi M. The cadherins: cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis. Development. 1988; 102(4):639
- Balsamo J, Arregui C, Leung T, Lilien J. The nonreceptor protein tyrosine phosphatase PTP1B binds to the cytoplasmic domain of N-cadherin and regulates the cadherin-actin linkage. J Cell Biol. 1998; 143(2):523
- Puch S, Armeanu S, Kibler C, Johnson KR, Muller CA, Wheelock MJ, Klein G. N-cadherin is developmentally regulated and functionally involved in early hematopoietic cell differentiation. J Cell Sci. 2001; 114(8):1567
- Laskin WB, Miettinen M. Epithelial-type and neural-type cadherin expression in malignant noncarcinomatous neoplasms with epithelioid features that involve the soft tissues. Arch Pathol Lab Med. 2002; 126(4):425
- Peralta Soler A, Knudsen KA, Tecson-Miguel A, McBrearty FX, Han AC, Salazar H. Expression of E-cadherin and N-cadherin in surface epithelial-stromal tumors of the ovary distinguishes mucinous from serous and endometrioid tumors. Hum Pathol 1997; 28(6):734
- Markovic-Lipkovski J, Brasanac D, Muller GA, Muller CA. Cadherins and integrins in renal cell carcinoma: an immunohistochemical study. Tumori. 2001;87(3):173
- Han AC, Peralta Soler A, Knudsen KA, Salazar H. Distinct cadherin profiles in special variant carcinomas and other tumors of the breast. Hum Pathol. 1999; 30(9):1035
- IHC003 Report On File

REF Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten
 Manufacturer Fabricant Hersteller	LOT Batch code Code du lot Chargenbezeichnung	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
EC REP Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU	IVD In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	



Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA

EC REP

Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

PT0039/Rev C