

**Polyclonal Rabbit  
Anti-Laminin  
Code No./ Code/ Code-Nr. Z 0097**

ENGLISH	
<b>Intended use</b>	For in vitro diagnostic use. Polyclonal Rabbit Anti-Laminin is intended for use in immunocytochemistry. The antibody labels laminin, which is present in the basement membrane. The antibody may be useful in the characterization of basement membrane preservation, e.g. in breast cancer (1, 2) and adenocarcinomas of the lung (3). 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.
<b>Introduction</b>	Laminins are large heterotrimeric basement membrane glycoproteins composed of an $\alpha$ -, a $\beta$ - and a $\gamma$ -chain. At present 5 $\alpha$ -chains, 3 $\beta$ -chains, and 3 $\gamma$ -chains are known to form at least 15 different isoforms (4). The laminin isoforms have different tissue- and developmental-specific localizations, and more than 20 cell surface receptors have been identified for laminin, including integrins, proteoglycans, lectins, gangliosides, sulphatides, amyloid precursor protein and galactosyltransferases (5, 6). Laminins have been found to promote cell adhesion, migration, protease activity, proliferation, tumour growth, angiogenesis and metastasis.
<b>Reagent provided</b>	Purified immunoglobulin fraction of rabbit antiserum provided in liquid form in 0.1 mol/L NaCl, 15 mmol/L NaN <sub>3</sub> . <u>Protein concentration g/L:</u> See label on vial.
<b>Immunogen</b>	Laminin isolated from the rat yolk sac tumour cell line L2.
<b>Specificity</b>	The antibody labels laminin in basement membranes. Traces of contaminating antibodies have been removed by solid-phase absorption with human and rat plasma proteins as well as rat immunoglobulins. In crossed immunoelectrophoresis, using 12.5 $\mu$ L antibody per cm <sup>2</sup> gel area against 2 $\mu$ L human plasma, 2 $\mu$ L rat plasma or 20 $\mu$ g of rat immunoglobulins, only one precipitate corresponding to laminin appears. Staining: Coomassie Brilliant Blue. As demonstrated by immunocytochemistry, the antibody cross-reacts with the laminin-equivalent protein in man, mouse (7) and rat (8).
<b>Precautions</b>	1. For professional users. 2. This product contains sodium azide (NaN <sub>3</sub> ), 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. 3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
<b>Storage</b>	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 our Technical Services.
<b>Specimen preparation</b>	<u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of tissues with DakoCytomation Proteinase K, code No. S 3020 is recommended. Heat-induced epitope retrieval with DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 6, code No. S 2369, DakoCytomation Target Retrieval Solution, code No. S 1700, DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9, code No. S 2368, or DakoCytomation Target Retrieval Solution, High pH, code No. S 3308, was found inefficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunocytochemical staining procedure.
<b>Staining procedure</b>	<u>Dilution:</u> Polyclonal Rabbit Anti-Laminin, code No. Z 0097, should be diluted in DakoCytomation Antibody Diluent, code No. S 0809, and may be used at a dilution range of 1:25-1:50 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of tonsil and using 5 minutes pre-treatment at room temperature with DakoCytomation Proteinase K, code No. S 3020, 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 DakoCytomation Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), code No. X 0936, diluted to the same protein 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 DakoCytomation Antibody Diluent, code No. S 0809. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimen. <u>Visualization:</u> DAKO LSAB™+/HRP kit, code No. K 0679, and DAKO EnVision™+/HRP kits, code Nos. K 4008 and K 4010 are recommended. Follow the procedure enclosed with the kit.
<b>Performance characteristics</b>	Extracellular matrix labelled by the antibody display staining of the basement membrane. <u>Normal tissues:</u> The antibody was found to label basement membranes in human tonsil and kidney. <u>Abnormal tissues:</u> In a study of 220 cases of ER-positive non-invasive breast lesions, labelling of 20 cases with the antibody revealed no distinct immunoreactivity in the surrounding disrupted myoepithelial cell layers, suggesting disruption of the basement membrane also (1).

In a study of 53 cases of lung carcinomas of the adenocarcinoma mixed bronchioloalveolar subtype, labelling with the antibody was lost in collapsed alveolar regions in 40/53 cases and in scarred regions in 53/53 cases indicating complete destruction of the basement membrane in these areas (3)

## FRANÇAIS

<b>Utilisation prévue</b>	Réservé au diagnostic in vitro. Polyclonal Rabbit Anti-Laminin est destiné à être utilisé en immunocytochimie. L'anticorps marque la laminine qui est présente au niveau de la membrane basale. L'anticorps peut être utile pour caractériser la préservation de la membrane basale, par exemple dans le cancer du sein (1, 2) et les adénocarcinomes des poumons (3). L'identification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. Les résultats doivent être interprétés par un pathologiste qualifié et tenir compte des antécédents cliniques du patient ainsi que d'autres tests diagnostiques.
<b>Introduction</b>	Les laminines sont de grosses glycoprotéines hétérotrimériques de la membrane basale, composées d'une chaîne $\alpha$ , d'une chaîne $\beta$ et d'une chaîne $\gamma$ . Actuellement, 5 chaînes $\alpha$ , 3 chaînes $\beta$ et 3 chaînes $\gamma$ sont connues, formant au moins 15 isoformes différentes (4). Les isoformes des laminines ont des localisations différentes spécifiques du tissu ou du stade de développement. Plus de 20 récepteurs de surface cellulaire ont été identifiés pour les laminines, incluant les intégrines, les protéoglycane, les lectines, les gangliosides, la protéine précurseur de l'amyloïde et les galactosyltransférases (5, 6). Les laminines favorisent l'adhésion cellulaire, la migration, l'activité protéase, la prolifération, la croissance tumorale, l'angiogenèse et les métastases.
<b>Réactifs fournis</b>	Fraction immunoglobuline purifiée d'un antisérum de lapin, fournie sous forme liquide dans 0,1 mol/L de chlorure de sodium (NaCl) et 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN <sub>3</sub> ). <u>Concentration en protéines en g/L:</u> Voir l'étiquette du flacon.
<b>Immunogène</b>	Laminine isolée à partir de la lignée cellulaire L2, tumeur de la membrane vitelline de rat.
<b>Spécificité</b>	L'anticorps marque la laminine dans les membranes basales. Les traces d'anticorps contaminant ont été éliminées par absorption en phase solide en utilisant des protéines de plasma humain et de rat ainsi que des immunoglobulines de rat. Lors d'une immunoelectrophorèse croisée, un seul précipité correspondant à la laminine apparaît lorsque 12,5 $\mu$ L d'anticorps par cm <sup>2</sup> de gel sont testés contre 2 $\mu$ L de plasma humain, 2 $\mu$ L de plasma de rat ou 20 $\mu$ g d'immunoglobulines de rat. Coloration : Coomassie Brilliant Blue. Comme le démontre l'immunocytochimie, l'anticorps présente une réaction croisée avec la protéine homologue à la laminine chez l'homme, la souris (7) et le rat (8).
<b>Précautions</b>	1. Pour utilisateurs professionnels. 2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN <sub>3</sub> ), un produit chimique très 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 pour former des accumulations d'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.
<b>Conservation</b>	Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date limite de péremption indiquée 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, ne pouvant être expliquée par un changement des procédures du laboratoire et en cas de suspicion d'un problème avec l'anticorps, contacter notre service technique.
<b>Préparation des échantillons</b>	<u>Coupes en paraffine:</u> L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. Il est recommandé d'effectuer un prétraitement des tissus avec la Proteinase K, n° de cat. S 3020 de DakoCytomation. La procédure de démasquage d'épitope par la chaleur (Heat Induced Epitope Retrieval, HIER) réalisée avec les solutions Target Retrieval Solution de DakoCytomation, pH 6, n° de cat. S 2369, Target Retrieval Solution de DakoCytomation, n° de cat. S 1700, Target Retrieval Solution de DakoCytomation, pH 9, n° de cat. S 2368 ou Target Retrieval Solution de DakoCytomation, High pH, n° de cat. S 3308 n'est pas efficace. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ou lors de la procédure de coloration immunocytochimique suivante.
<b>Procédure de coloration</b>	<u>Dilution:</u> Polyclonal Rabbit Anti-Laminin, n° de cat. Z 0097, doit être dilué dans l'Antibody Diluent de DakoCytomation, n° de cat. S 0809. Cet anticorps peut être utilisé dans une gamme de dilution au 1:25–1:50 lorsqu'il est appliqué sur des coupes d'amygdale incluses en paraffine et fixées au formol, avec un prétraitement de 5 minutes à température ambiante à la Proteinase K de DakoCytomation, n° de cat. S 3020 et une incubation de 30 minutes à température ambiante avec l'anticorps primaire. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Le contrôle négatif recommandé est le Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed) de DakoCytomation, n° de cat. X 0936, dilué à la même concentration en protéines que l'anticorps primaire. A moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie pour cette procédure de coloration, il est recommandé de diluer ces réactifs juste avant usage, ou de les diluer avec l'Antibody Diluent de DakoCytomation, n° de cat. S 0809. Des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. <u>Visualisation:</u> DAKO LSAB™+/HRP kit, n° de cat. K 0679, et DAKO EnVision™+/HRP kits, n° de cat. K 4008 et K 4010 sont recommandés. Suivre la procédure incluse dans la trousse.
<b>Caractéristiques de performance</b>	La matrice extracellulaire marquée par l'anticorps présente une coloration de la membrane basale. <u>Tissus sains:</u> L'anticorps marque les membranes basales dans l'amygdale et le rein de l'homme.

**Tissus tumoraux:** Dans une étude portant sur 220 cas de lésions des seins non invasives, positives au récepteur des œstrogènes (ER), le marquage de 20 cas avec l'anticorps n'a révélé aucune immunoréactivité distincte des couches cellulaires myoépithéliales environnantes lésées, ce qui laisse penser que la membrane basale est également lésée (1).

Dans une étude portant sur 53 cas de carcinomes des poumons du sous-type adénocarcinome mixte bronchio-alvéolaire, le marquage avec l'anticorps a été perdu dans les régions alvéolaires collabées dans 40 cas sur 53 et dans les régions cicatricielles dans 53 cas sur 53, ce qui évoque une destruction complète de la membrane basale dans ces régions (3).

## DEUTSCH

**Verwendungszweck** Zur In-vitro-Diagnostik.

Polyclonal Rabbit Anti-Laminin dient zur Verwendung in der Immunzytochemie. Der Antikörper markiert Laminin, das in der Basalmembran vorkommt. Der Antikörper könnte bei der Charakterisierung von Basalmembran-Erhaltung, beispielsweise bei Brustkrebs (1, 2) und Adenokarzinomen der Lunge (3) von Nutzen sein. Die Identifizierung wird durch die Ergebnisse des Antikörper-Panels unterstützt. Auswertungen müssen von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.

**Einführung** Laminine sind große heterotrimer Basalmembran-Glykoproteine, die aus einer  $\alpha$ -, einer  $\beta$ - und einer  $\gamma$ -Kette bestehen. Nach dem aktuellen Kenntnisstand bilden 5  $\alpha$ -Ketten, 3  $\beta$ -Ketten und 3  $\gamma$ -Ketten mindestens 15 verschiedene Isoformen (4). Die Laminin-Isoformen befinden sich an verschiedenen Gewebe- und Entwicklungsstadium-spezifischen Stellen und es wurden über 20 Zelloberflächen-Rezeptoren für Laminin identifiziert, darunter Integrine, Proteoglykane, Lectine, Ganglioside, Sulfatide, Amyloid-Vorläuferprotein und Galaktosyltransferasen (5, 6). Laminine fördern Zelladhäsion, Migration, Protease-Aktivität, Proliferation, Tumorwachstum, Angiogenese und Metastasierung.

**Mitgeliefertes Reagenz** Gereinigtes Kaninchenantiserum-Immunglobulinfraktion in Flüssigform in 0,1 mol/L NaCl, 15 mmol/L NaN<sub>3</sub>.  
Proteinkonzentration g/L: Siehe Flaschenetikett.

**Immunogen** Aus der Zelllinie L2 von Ratten-Dottersacktumorzellen isoliertes Laminin.

**Spezifität** Der Antikörper markiert Laminin in Basalmembranen. Spuren kontaminierter Antikörper wurden durch Festphasen-Absorption mit Human- und Rattenplasmaproteinen und Ratten-Immunglobulinen entfernt.

Bei der gekreuzten Immunelektrophorese mit 12,5  $\mu$ L Antikörper pro cm<sup>2</sup> Gelbereich und 2  $\mu$ L Humanplasma, 2  $\mu$ L Rattenplasma oder 20  $\mu$ g Ratten-Immunglobulinen taucht nur ein Laminin entsprechendes Präzipitat auf. Färbung: Coomassie Brilliant Blue.

Wie immunzytochemisch belegt wurde, tritt zwischen dem Antikörper und dem Laminin entsprechenden Protein bei Menschen, Mäusen (7) und Ratten (8) eine Kreuzreaktion auf.

**Vorsichtsmaßnahmen**

- Nur für Fachpersonal bestimmt.
- Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN<sub>3</sub>), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Natriumazid kann auch in Konzentrationen, die nicht als gefährlich klassifiziert sind, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach deren Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Metallazidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
- Wie alle Produkte biologischen Ursprungs muss auch dieses entsprechend gehandhabt werden.

**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 zum gleichen Zeitpunkt 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 unser technischer Kundendienst zu verständigen.

**Vorbereitung der Probe** Paraffinschnitte: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von paraffineingebetteten, formalinfixierten Gewebeschnitten. Es wird eine Vorbehandlung der Gewebe mit DakoCytomation Proteinase K, Code-Nr. S 3020 empfohlen. Eine hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 6, Code-Nr. S 2369, DakoCytomation Target Retrieval Solution, Code-Nr. S 1700, DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9, Code-Nr. S 2368 oder DakoCytomation Target Retrieval Solution, High pH, Code-Nr. S 3308 reicht den Erkenntnissen zufolge nicht aus. Während der Behandlung oder des nachfolgenden immunzytochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte niemals austrocknen.

**Färbeverfahren** Verdünnung: Polyclonal Rabbit Anti-Laminin, Code-Nr. Z 0097 in DakoCytomation Antibody Diluent, Code-Nr. S 0809 verdünnen und in einem Verdünnungsverhältnis von 1:25–1:50 verwenden, wenn es auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von Mandelgewebe angewendet wird, und 5 Minuten bei Raumtemperatur mit DakoCytomation Proteinase K, Code-Nr. S 3020 vorbehandeln und 30 Minuten bei Raumtemperatur mit dem primären Antikörper inkubieren. Optimale Bedingungen können je nach Probe und Vorbereitungsmethode unterschiedlich sein und sollten von jedem Labor selbst bestimmt werden. Die empfohlene Negativkontrolle ist DakoCytomation Rabbit Immunglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), Code-Nr. X 0936, verdünnt auf dieselbe Proteinkonzentration wie der primäre Antikörper. Es wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor Gebrauch zu verdünnen bzw. in DakoCytomation Antibody Diluent, Code-Nr. S 0809 zu verdünnen, es sei denn die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle wurde im eigentlichen Färbeverfahren dokumentiert. Positiv- und Negativkontrollen sollten zum gleichen Zeitpunkt wie die Patientenproben getestet werden.

Visualisierung: DAKO LSAB™+/HRP kit, Code-Nr. K 0679 und DAKO EnVision™+/HRP Kits, Code-Nr. K 4008 und K 4010 werden empfohlen. Das im Kit enthaltene Verfahren befolgen.

**Leistungsmerkmale** Vom Antikörper markierte extrazelluläre Matrix weist eine Färbung der Basalmembran auf.

Normale Gewebe: Der Antikörper markiert Basalmembranen in menschlichen Mandeln und Nieren.








Abnormale Gewebe: Bei einer Untersuchung von 220 Fällen von ER-positiven nicht-invasiven Brustläsionen ergab die Markierung mit dem Antikörper in 20 Fällen keine erkennbare Immunreaktivität in den umliegenden zerrissenen Myoepithelzellschichten, was darauf hindeutet, dass auch die Basalmembran zerrissen wurde (1).

Bei einer Untersuchung von 53 Fällen von Lungenkarzinomen der Adenokarzinom-gemischten bronchiolo-alveolären Unterart ging die Markierung mit dem Antikörper in 40/53 Fällen in kollabierten Alveolarbereichen und in 53/53 Fällen in vernarbten Bereichen verloren, was auf eine vollständige Zerstörung der Basalmembran in diesen Bereichen hindeutet (3).

## References/ Références/ Literatur

- Man Y-g, Tai L, Barner R, Vang R, Saenger JS, Shekitka KM, et al. Cell clusters overlying focally disrupted mammary myoepithelial cell layers and adjacent cells within the same duct display different immunohistochemical and genetic features: implications for tumor progression and invasion. Breast Cancer Res 2003;5:R231-41.
- Jing X, Kakudo K, Murakami M, Nakamura Y, Nakamura M, Yokoi T, et al. Intraductal spread of invasive breast carcinomas has a positive correlation with c-erb B-2 overexpression and vascular invasion. Cancer 1999;86:439-48.
- Goto K, Yokose T, Kodama T, Nagai K, Nishiwaki Y, Ando M, et al. Detection of early invasion on the basis of basement membrane destruction in small adenocarcinomas of the lung and its clinical implications. Mod Pathol 2001;14:1237-1245.
- Kutleša S, Siler U, Speiser A, Wessels JT, Virtanen I, Rousselle P, et al. Developmentally regulated interactions of human thymocytes with different laminin isoforms. Immunology 2002;105:407-418.
- Engel J. Laminins and other strange proteins. Biochemistry 1992;31:10643-51.
- Engbring JA, Kleinman HK. The basement membrane matrix in malignancy. J Pathol 2003;200:465-70.
- Kamba T, Higashi S, Kamoto T, Shisa H, Yamada Y, Ogawa O, et al. Animal Model. Failure of ureteric bud invasion. A new model of renal agenesis in mice. Am J Pathol 2001;159:2347-52.
- Paku S, Schnur J, Nagy P, Thorgeirsson SS. Origin and structural evolution of the early proliferating oval cells in rat liver. Am J Pathol 2001;158:1313-23.

## Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 2 °C – 8 °C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 LOT	Batch code Code du lot Chargenbezeichnung		
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Use by Utiliser jusque Verwendbar bis		