



Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A Clone A103

Code M7196

ENGLISH
Intended use <div>For in vitro diagnostic use.</div>

Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, Clone A103, is intended for use in immunohistochemistry. The antibody labels melanocytes and is a useful tool for the identification of melanomas (1, 2), and, if melanoma is ruled out, for adrenocortical carcinomas (3, 4). The antibody is also applicable as a useful marker for angiomyolipomas (5). Differential identification 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.

Synonyms

MART-1 (1).

Summary and explanation

Melan-A, isolated as a melanoma-specific antigen, is a transmembrane protein composed of 118 amino acids with uncertain function (1). The *Melan-A* gene was cloned from a human melanoma cell line, and its expression on melanomas is recognized by autologous cytotoxic T cells (6). Melan-A is expressed in skin, retina and the majority of cultured melanocytes and melanomas, whereas a vast variety of other tissues and cancers tested do not express Melan-A (1, 6, 7). However, Melan-A is expressed in angiomyolipomas (5). Along with Melan-A, seven other melanoma antigens have been identified: MAGE-1, MAGE-3, tyrosinase, gp100, gp75, BAGE-1 and GAGE-1, which are all recognized by autologous cytotoxic T cells (1).

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: A103 (1). **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

Recombinant protein expressed in *E. coli* corresponding to Melan-A (1).

Specificity

In Western blotting of cell lysates from Melan-A mRNA positive cell lines, the antibody labels a protein doublet of 20-22 kDa, whereas no labelling is detected in Melan-A mRNA-negative cell lines (1).

In immunoprecipitates of Melan-A positive cell lines SK-MEL-13 and SK-MEL-19, the antibody labels a protein doublet of 20-22 kDa corresponding to Melan-A, whereas no precipitation is detected in Melan-A mRNA-negative melanoma cell lines (1).

Precautions

- For professional users.
- This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
- As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
- Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
- Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

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 Services.

Specimen preparation

Paraffin sections: The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of tissues with heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, High pH, code S3308 or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. The following solutions Dako Target Retrieval Solution, code S1700 and 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0 or pre-treatment of tissues with proteinase K was found inefficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. 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. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimen.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labelling acetone-fixed, frozen sections and cell preparations (1).

Staining procedure

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, code M7196, may be used at a dilution range of 1:25-1:50 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human malignant melanoma and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval Solution, High pH, code S3308, 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 Mouse IgG1, code X0931, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody.

Visualization: Dako LSAB™+/HRP kit, code K0679, and Dako EnVision™+ /HRP kits, codes K4004 and K4006, are recommended. For frozen sections and cell preparations, the Dako APAAP kit, code K0670, is a good alternative if endogenous peroxidase staining is a concern. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Automation: The antibody is well-suited for immunohistochemical staining using automated platforms, such as the Dako Autostainer (4).

Product-specific limitations

Due to nonspecific immunoreactivity, the antibody has been reported to label adrenal cortex, adrenocortical adenomas, primary and metastatic adrenocortical carcinomas (ACC), angiomyolipomas (AML) (5), Leydig cells and Leydig tumours of the testis and granulosa and theca cells of the ovary as well as Sertoli-Leydig cell tumours of the ovary (2, 3). Especially in the adrenocotical tumours, the antibody is found useful in distinguishing adrenal cortical neoplasms from other carcinomas and pheochromocytomas (4).

(104699-002)	M7196/EFG/KRM/2008.09.30 p. 1/4	
--------------	---------------------------------	--

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17



Using 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0 for heat-induced epitope retrieval, the antibody may display background staining in single cells of the kidney.

Performance characteristics

Cells labelled by the antibody display a cytoplasmic staining pattern (1).

Normal tissues: The antibody labels skin, whereas stomach, colon, lung, liver, spleen, kidney, testis, urinary bladder, breast, ovary, smooth muscle and adipose tissues are not labelled by the antibody (1, 5). The steroid-producing cells of adrenal cortex, ovary and testis have been reported to be labelled by the antibody (2). See also product-specific limitations.

Abnormal tissues: In metastatic melanomas 16/21 cases were labelled by the antibody, showing positive homogeneous, cytoplasmic staining in >80-90% of melanoma cells, except one which displayed focal staining (1). In another study of 10 benign melanocytic nevi, 10 primary melanomas and 75 metastatic melanomas, the antibody labelled 10/10 benign melanocytic nevi, 7/10 primary melanomas and 61/75 metastatic melanomas (2).

Among 111 carcinomas, mainly adenocarcinomas and squamous cell carcinomas, 40 germ cell tumours and 33 miscellaneous non-melanocytic epithelioid tumours, none were labelled by the antibody. The antibody labelled 5/5 adrenal cortical adenomas, 16/16 primary and 13/13 metastatic adrenal cortical carcinomas, and also 4/4 Leydig cell tumours of the testis and 3/4 Sertoli-Leydig cell tumours of the ovary were labelled by the antibody (3). In another study of 316 cases, including 21 adrenal cortical tumours, 16 metastatic carcinomas to the adrenal, 10 pheochromocytomas, and 269 extra-adrenal carcinomas, the antibody labelled 14/14 adrenal cortical adenomas, 7/7 adrenal cortical carcinomas, 0/16 metastatic carcinomas to the adrenal and 0/10 pheochromocytomas. Of the 269 extra-adrenal carcinomas, a single ovarian serous carcinoma was labelled (4).

In a study of 18 angiomyolipomas, all 18 were labelled by the antibody (5). In another report all three angiomyolipomas tested were labelled by the antibody (2).

FRANÇAIS
Intérêt <div>Pour diagnostic <i>in vitro</i>.</div>

Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, Clone A103, est destiné pour un usage en immunohistochimie. L'anticorps marque les mélanocytes et constitue un instrument pratique pour l'identification des mélanomes (1, 2) et, si le mélanome est écarté, celle des carcinomes adrénocorticaux (3, 4). L'anticorps peut également être utilisé en tant que marqueur des angiomyolipomes (5). L'identification différentielle s'appuie sur les résultats obtenus à l'aide 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

Synonyme de l'antigène

MART-1 (1).

Résumé et explication

Le peptide Melan-A, isolé en tant qu'antigène spécifique des mélanomes, est une protéine transmembranaire constituée de 118 acides aminés dont la fonction est incertaine (1). Le gène du *Melan-A* a été cloné à partir d'une lignée cellulaire de mélanome humain, et son expression à la surface des mélanomes est reconnue par les lymphocytes T cytotoxiques autologues (6). Le Melan-A est exprimé dans la peau, la rétine et la majorité des mélanocytes cultivés et des mélanomes, alors qu'un grand nombre d'autres tissus et de cancers testés n'expriment pas le Melan-A (1, 6, 7). Cependant, le Melan-A est exprimé dans les angiomyolipomes (5). Outre le Melan-A, sept autres antigènes des mélanomes ont été identifiés : MAGE-1, MAGE-3, tyrosinase, gp100, gp75, BAGE-1 et GAGE-1, qui sont tous reconnus par les lymphocytes T cytotoxiques autologues (1).

Réactif fourni

L'anticorps de souris monoclonale fourni à l'état liquide comme culture cellulaire surnageante dialysée contre 0,05 mol/L Tris/HCl, pH 7.2, et contenant 15 mmol/L NaN₃.

Clone : A103 (1). **Isotype :** IgG1, kappa.

Concentration IgG de Souris : Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.

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 immunohistochimiques cohérentes d'un lot à l'autre.

Immunogène

Protéine recombinante exprimée dans *E. coli* correspondant au Melan-A (1).

Spécificité

Lors de transferts de type Western de lysats cellulaires provenant de lignées cellulaires Melan-A mRNA positives, l'anticorps marque un doublet protéique de 20 à 22 kDa, alors qu'aucun marquage n'est détecté dans les lignées cellulaires Melan-A mRNA négatives (1).

Dans les immunoprécipités de lignées cellulaires Melan-A positives SK-MEL-13 et SK-MEL-19, l'anticorps marque un doublet protéique de 20 à 22 kDa correspondant au Melan-A, alors qu'aucune précipitation n'est détectée dans les lignées cellulaires Melan-A mRNA négatives (1).

Précautions d'emploi

- Pour utilisateurs professionnels.
- Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien qu'il ne soit pas classé comme étant nuisible, l'azide de sodium peut réagir avec la tuyauterie en plomb et en cuivre pour former des dépôts hautement explosifs d'azides métallisés. Lors de l'élimination du produit, laisser couler l'eau à flot pour éviter toute accumulation d'azides métallisés dans la tuyauterie.
- Comme pour tout dérivé biologique dangereux à manipuler, une précision s'impose.
- Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
- Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conservier entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date 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, 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 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 de l'échantillon

Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Le prétraitement des tissus par démasquage de l'épitope par la chaleur est requis Des résultats optimaux sont obtenus avec Dako Target Retrieval Solution, à pH élevé, code S3308, ou avec du tampon Tris 10 mmol/l, 1 mmol/l EDTA, à 9,0 de pH. Les solutions suivantes, Dako Target Retrieval Solution, code S1700, ou un tampon citrate 10 mmol/l, à 6,0 de pH, ou le prétraitement des tissus par la protéinase K se sont avérées inefficaces. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure d'immunomarquage immunohistochimique suivante. A moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif ait été établie dans la procédure d'immunomarquage réelle, il est recommandé de diluer ces réactifs juste avant leur emploi, ou de les diluer dans Dako Antibody Diluent, code S0809. Les contrôles positifs et négatifs doivent être opérés simultanément avec l'échantillon du patient.

Coupes congelées et préparations cellulaires : L' anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes en congélation et préparations cellulaires fixées à l'acétone. (1).

Procédure d'immunomarquage

Dilution : Monoclonal Mouse Anti-Human Melan-A, code M7196, peut être dilué entre 1:25 et 1:50 pour application sur des coupes incluses en paraffine, fixées au formol, de mélanome malin humain et par démasquage de l'épitope induite par la chaleur pendant 20 minutes dans Dako Target Retrieval Solutionla, à pH élevé, code S3308, et 30 minutes d'incubation à température ambiante avec l'anticorps primaire. Les conditions optimales peuvent varier selon l'échantillon et la méthode de préparation, et doivent être

(104699-002)	M7196/EFG/KRM/2008.09.30 p. 2/4	
--------------	---------------------------------	--

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

