

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Serotonin**
Clone 5HT-H209
Code M0758

ENGLISH	
Intended use	For in vitro diagnostic use. Monoclonal Mouse Anti-Human Serotonin, Clone 5HT-H209, is intended for use in immunocytochemistry. The antibody labels cells expressing serotonin. The antibody may be a useful tool for characterization of carcinoids (1-3). 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.
Synonym for antigen	5-hydroxytryptamine, 5HT (4).
Summary and explanation	Carcinoid tumours are the most commonly occurring endocrine tumours. Although generally found in the gut wall, they also occur in the pancreas, rectum, ovary and lung (5). Carcinoid tumours typically contain numerous membrane-bound neurosecretory granules, which are composed of a variety of hormones and biogenic amines. One of the best characterized of these substances is serotonin. Serotonin is synthesized from its precursor, 5-hydroxytryptophan, by the enzyme aromatic acid decarboxylase. Serotonin is subsequently metabolised by monoamine oxidase to 5-hydroxyindoleacetic acid, which is excreted in the urine (6). In addition to serotonin, carcinoid tumours have been found to secrete corticotropin, histamine, dopamine, substance P, neurotensin, prostaglandins, and kallikrein (6). Among endocrine tumours of the gastrointestinal tract, carcinoid tumours arising from the midgut secrete serotonin, while carcinoid tumours arising from the hindgut rarely secrete serotonin (5).
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 NaN ₃ . <u>Clone:</u> 5HT-H209. <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Mouse IgG concentration:</u> See label on vial.
Immunogen	5-hydroxytryptamine hydrochloride.
Specificity	In immunocytochemistry the antibody labels entero-chromaffine (EC) cells in colon. As demonstrated by immunocytochemistry, the antibody cross-reacts with the serotonin-equivalent molecule in guinea pig (4), mouse (7) and rat (8).
Precautions	1. For professional users. 2. This product contains sodium azide (NaN ₃), 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. 4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. 5. 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 our Technical Services.
Specimen preparation	<u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of tissues with Dako Proteinase K, code S3020, or heat-induced epitope retrieval is required. For heat-induced epitope retrieval, optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, code S1700. Less optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, High pH, code S3308, Dako Target Retrieval Solution, pH 9.0, code S2368, or 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunocytochemical staining procedure. <u>Frozen sections and cell preparations:</u> The antibody can be used for labelling frozen sections (4) or cell smears (2).
Staining procedure	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human Serotonin, code M0758, may be used at a dilution range of 1:50-1:100 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human colon and using 5 minutes proteolytic epitope 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 Mouse IgG1, code X0931, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody. Unless the stability of the diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, it is recommended to dilute these reagents immediately before use, or dilute in Dako Antibody Diluent, code S0809. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimen.

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.

FRANÇAIS	
Performance characteristics	Cells labelled by the antibody display a cytoplasmic staining pattern. <u>Normal tissues:</u> The antibody labels EC cells in colon. <u>Abnormal tissues:</u> In a study of 48 cases of adenomas and carcinoid tumours of the middle ear, the antibody labelled tumour cells in 12 cases (25%) (1). In 1 case of carcinoid tumour of the middle ear, the antibody labelled tumour cells (2). In a study of 43 cases of bronchial carcinoid tumours, the antibody labelled tumour cells in 13 cases (30%) (3).
Intérêt	Pour diagnostic in vitro. L'anticorps monoclonal de souris anti-sérotonine humaine, clone 5HT-H209, est destiné à être utilisé en immunocytochimie. L'anticorps marque les cellules qui expriment la sérotonine. L'anticorps peut constituer un instrument pratique pour caractériser les carcinoides (1-3). L'identification différentielle s'appuie sur les résultats obtenus à l'aide d'un panel d'anticorps. L'interprétation des résultats doit être réalisée uniquement par un professionnel agréé dans le contexte de l'historique clinique du patient et d'autres examens.
Synonyme pour l'antigène	5-hydroxytryptamine, 5HT (4).
Résumé et explication	Les tumeurs carcinoïdes sont les tumeurs endocrines les plus fréquentes. Bien qu'elles se situent en général dans la paroi des viscères, il arrive parfois qu'elles se produisent dans le pancréas, le rectum, les ovaires ou les poumons (5). Les tumeurs carcinoïdes renferment typiquement de nombreuses granules neurosécrétoires liées à la membrane renfermant diverses hormones et amines biogènes. La sérotonine est l'une des mieux connues de ces substances. La sérotonine est synthétisée à partir de son précurseur, le 5-hydroxytryptophane, par une enzyme, la décarboxylase des acides aromatiques. La sérotonine est ensuite métabolisée par la monoamine-oxydase en acide 5-hydroxyindoleacétique, qui est excrété dans l'urine (6). Outre la sérotonine, les tumeurs carcinoïdes sécrètent de la corticotrophine, de l'histamine, de la dopamine, de la substance P, de la neurotensine, des prostaglandines et de la kallikréine (6). Parmi les tumeurs endocrines de l'appareil gastro-intestinal, les tumeurs carcinoïdes prenant naissance dans l'intestin moyen sécrètent de la sérotonine, alors que les tumeurs carcinoïdes prenant naissance dans l'intestin postérieur ne sécrètent que rarement de la sérotonine (5).
Réactif fourni	Anticorps monoclonal de souris sous forme liquide, surnageant de culture cellulaire dialysé contre du Tris/HCl 0,05 mol/L, à 7,2 de pH, contenant 15 mmol/L de NaN ₃ . <u>Clone:</u> 5HT-H209. <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Concentration en IgG de souris:</u> Voir l'étiquette sur le flacon.
Immunogène	Chlorhydrate de 5-hydroxytryptamine.
Spécificité	En immunocytochimie, l'anticorps marque les cellules entéro-chromaffines (EC) dans le côlon. Ainsi que le démontre l'immunocytochimie, l'anticorps présente des réactions croisées avec les protéines équivalentes à la sérotonine chez le cochon d'Inde (4), la souris (7) et le rat (8).
Précautions d'emploi	1. Pour utilisateurs professionnels. 2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN ₃), 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 les canalisations en plomb et en cuivre pour former des dépôts d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer avec de grandes quantités d'eau pour éviter l'accumulation d'azides métalliques dans les canalisations. 3. Comme pour tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être utilisées. 4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau. 5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.
Conservation	Conserver entre 2° et 8°C. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs ont été conservés dans des conditions autres que celles qui sont préconisées, ces conditions doivent être vérifiées par les utilisateurs. Aucun signe visible n'indique l'instabilité du produit. Par conséquent il faut utiliser des contrôles positifs et négatifs au cours de chaque technique. Si un marquage non conforme est observé qui ne peut pas s'expliquer par des variations dans les procédures du laboratoire et si le réactif est défectueux, contactez nos services techniques.
Préparation de l'échantillon	<u>Coupes en paraffine:</u> L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Le prétraitement des tissus par la protéinase K Dako, code S3020, ou par restauration des épitopes induite par la chaleur est nécessaire. Pour une restauration des épitopes induite par la chaleur, des résultats optimaux sont obtenus avec la solution de restauration des cibles Dako, code S1700. Des résultats moins optimaux sont obtenus avec la solution de restauration des cibles Dako à 9,0 de pH, code S2368, la solution de restauration des cibles Dako à pH élevé, code S3308 et le tampon citrate 10 mmol/L, à 6,0 de pH. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure de marquage immunocytochimique suivante. <u>Préparations des cellules et coupes congelées:</u> L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes congelées (4) et des frottis cellulaires (2).
Procédure de marquage	<u>Dilution:</u> L'anticorps monoclonal de souris anti-sérotonine humaine, code M0758, peut être utilisé dans une gamme de dilution allant du 1: 50 au 1: 100 quand il est appliqué sur des coupes en paraffine, fixées au formol, de côlon humain et en utilisant une restauration protéolytique de l'épitope avec la Protéinase K Dako, code S3020, d'une durée de 5 minutes, ainsi qu'une incubation d'une durée de 30 minutes à température ambiante avec l'anticorps primaire. Les

conditions optimales peuvent varier selon l'échantillon et la méthode de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire particulier. L'IgG1 de souris Dako, code X0931, dilué à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire constitue le contrôle négatif recommandé. A moins que les stabilités de l'anticorps et du contrôle négatif, dilués, n'aient été établies au cours de la procédure de coloration elle-même, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant leur emploi, ou d'utiliser le diluant pour anticorps Dako, code S0809. Les contrôles positif et négatif doivent être accomplis en même temps que les spécimens du patient.

Révélation: La trousse Dako LSAB™+/HRP, code K0679, et les trousse Dako EnVision™+/HRP, codes K4004 et K4006, sont recommandées. Pour les coupes congelées et les préparations de cellules, la trousse Dako APAAP, code K0670, constitue une bonne alternative si la coloration par la peroxydase endogène pose un problème. Respecter la procédure fournie avec la trousse de révélation choisie :

Performances Les cellules marquées par l'anticorps présentent un profil de coloration cytoplasmique.

Tissus normaux: L'anticorps marque les cellules EC dans le côlon.

Tissus anormaux: Lors d'une étude portent sur 48 cas d'adénomes et de tumeurs carcinoïdes de l'oreille moyenne, l'anticorps a marqué les cellules tumorales dans 12 cas (25 %) (1). Dans un cas de tumeur carcinoïde de l'oreille moyenne, l'anticorps a marqué les cellules tumorales (2). Lors d'une étude portent sur 43 cas de tumeurs carcinoïdes bronchiques, l'anticorps a marqué les cellules tumorales dans 13 cas (30 %) (3).

DEUTSCH

Zweckbestimmung Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

Monoclonal Mouse Anti-Human Serotonin, Clone 5HT-H209, ist für den immunzytochemischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper markiert Serotonin exprimierende Zellen. Der Antikörper kann für die Charakterisierung von Karzinoiden nützlich sein (1-3). Die differentielle Identifizierung wird durch die mit einem Antikörper-Panel erhaltenen Resultate unterstützt. Die Interpretation muss unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren durch einen erfahrenen Pathologen erfolgen.

Synonyme Bezeichnungen des Antigens 5-Hydroxytryptamin, 5HT (4).

Zusammenfassung und Erklärung Karzinoide Tumore sind die am häufigsten auftretenden endokrinen Tumore. Auch wenn sie generell in der Intestinalwand angetroffen werden, können sie auch in Pankreas, Rektum, Ovar und Lunge auftreten (5). Typischerweise enthalten karzinoide Tumore zahlreiche membrangebundene neurosektorische Granula, die sich aus einer Vielzahl von Hormonen und biogenen Aminen zusammensetzen. Serotonin ist einer dieser Substanzen, die am besten charakterisiert wurde. Serotonin entsteht im Organismus aus der essentiellen Aminosäure Tryptophan durch Hydroxylierung zu 5-Hydroxytryptophan und anschließender Decarboxylierung unter enzymatischem Einfluss. Durch das Enzym Monoaminoxidase wird Serotonin anschließend zu 5-Hydroxy-indolylessigsäure verstoffwechselt und in dieser Form renal eliminiert (6). Es wurde ermittelt, dass karzinoide Tumore zusätzlich zu Serotonin auch Corticotropin, Histamin, Dopamin, Substanz P, Neutensin, Prostaglandine und Kallikrein absondern (6). Von den endokrinen Tumoren des Gastrointestinaltrakts sondern die aus dem Mesenterium entspringenden karzinoide Tumore Serotonin ab, während Karzinoide aus dem posterioren Darmabschnitt selten Serotonin sekretieren (5).

Geliefertes Reagenz Der monoklonale murine Antikörper liegt vor in flüssiger Form als Zellkulturüberstand, wurde gegen 0,05 mol/L Tris/HCl, pH 7,2, dialysiert und enthält 15 mmol/L NaN₃.

Klon: 5HT-H209. **Isotyp:** IgG1, Kappa.

Maus-IgG-Konzentration: Siehe Produktetikett.

Immunogen 5-Hydroxytryptaminhydrochlorid.

Spezifität In der Immunzytochemie markiert der Antikörper enterochromaffine (EC) Zellen des Kolons.

Es wurde der immunzytochemische Nachweis erbracht, dass der Antikörper bei Meerschweinchen (4), Maus (7) und Ratte (8) mit dem Serotonin-äquivalenten Molekül reagiert

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Für geschultes Fachpersonal.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. 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 Metallazid-Anreicherung zu vermeiden.
3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.
4. Entsprechende Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung Bei 2 – 8°C lagern. Nicht nach dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum verwenden. Sollten die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt worden sein, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produktes. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Wenn unerwartete Verfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit unserem technischen Kundendienst aufzunehmen.

Probenvorbereitung **Paraffinschnitte:** Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten formalinfixierten Gewebeschnitten genutzt werden. Gewebe müssen mit Dako Proteinase K, Code-Nr. S3020 oder hitzeinduzierter Epitopdemaskierung

(104960-003) M0758/EFG/KRM/12.01.06 p. 3/4

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

vorbehandelt werden. Für die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung werden optimale Resultate erzielt mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700. Weniger optimale Resultate werden erzielt mit Dako Target Retrieval Solution, High pH, Code-Nr. S3308, Dako Target Retrieval Solution, pH 9,0, Code-Nr. S2368 oder 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6,0. Während der Gewebepreparierung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen Färbeprozedur dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und zytologische Präparate: Der Antikörper kann für die Markierung von Gefrierschnitten (4) oder fixierten Zellabstrichen (2) verwendet werden.

Färbeprozedur **Verdünnung:** Polyclonal Rabbit Anti-Human Serotonin, Code-Nr. M0758, kann bei einem Verdünnungsbereich von 1:50-1:100 eingesetzt werden, wenn es für formalinfixierte paraffineingebettete Schnitte des menschlichen Kolons genutzt wird und wenn 5 Minuten lang die proteolytische Epitopdemaskierung mit Dako Proteinase K, Code-Nr. S3020, gefolgt von 30 Minuten Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur, durchgeführt wird. Die optimalen Bedingungen schwanken je nach Probe und Methode der Probenvorbereitung und sollten von jedem einzelnen Labor bestimmt werden. Die empfohlene Negativkontrolle ist Dako Mouse IgG1, Code-Nr. X0931, die auf dieselbe murine IgG-Konzentration wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Solange mit dem eigentlichen Testsystem die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle nicht sichergestellt ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor Gebrauch zu verdünnen oder die Verdünnung mit Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, vorzunehmen. Es sollten die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden.

Visualisierung: Folgende Kits werden empfohlen: Dako LSAB™+/HRP-Kit, Code-Nr. K0679 und Dako EnVision™+/HRP-Kits, Code-Nr. K4004 und K4006. Falls bei Gefrierschnitten und Zellpräparaten Probleme mit endogener Peroxidasefärbung auftreten, bietet der Dako APAAP Kit, Code-Nr. K0670, eine gute Alternative. Es ist dem Verfahren zu folgen, das in den Anleitungen des genutzten Kits für die Visualisierung erläutert wird.

Leistungseigenschaften Durch den Antikörper markierte Zellen zeigen ein zytoplasmatisches Färbemuster.





Normalgewebe: Der Antikörper markiert EC-Zellen des Kolons.

Anomale Gewebe: Bei einer Studie von 48 Fällen von Adenomen und Karzinoiden des Mittelohrs markierte der Antikörper Tumorzellen in 12 Fällen (25 %) (1). Bei einem Fall eines karzinoide Tumors des Mittelohrs markierte der Antikörper Tumorzellen (2). Im Rahmen einer Studie an 43 Karzinoiden der Bronchien markierte der Antikörper in 13 Fällen (30 %) Tumorzellen (3).

References/ Références/ Literatur

1. Torske KR, Thompson LDR. Adenoma versus carcinoid tumor of the middle ear: a study of 48 cases and review of the literature. Mod Pathol 2002;15:543-55.
2. Menezes G, Wakely P. Aspiration cytopathology of middle-ear neuroendocrine carcinoma. Diagn Cytopathol 2001;25:168-71.
3. Granberg D, Wilander E, Öberg K, Skogseid B. Prognostic markers in patients with typical bronchial carcinoid tumors. J Clin Endocrinol Metab 2000;85:3425-30.
4. Suzuki A, Naruse S, Kitagawa M, Ishiguro H, Yoshikawa T, Ko SBH, et al. 5-hydroxytryptamine strongly inhibits fluid secretion in guinea pig pancreatic duct cells. J Clin Invest 2001;108:749-56.
5. Perry RR, Vinik AI. Endocrine tumors of the gastrointestinal tract. Annu Rev Med 1996;47:57-68.
6. Kulke MH, Mayer RJ. Carcinoid tumors. N Engl J Med 1999;340:858-68.
7. Batt J, Asa S, Fladd C, Rotin D. Pituitary, pancreatic and gut neuroendocrine defects in protein tyrosine phosphatase-sigma-deficient mice. Mol Endocrinol 2002;16:155-69.
8. Date Y, Kojima M, Hosoda H, Sawaguchi A, Mondal MS, Suganuma T, et al. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing acylated peptide, is synthesized in a distinct endocrine cell type in the gastrointestinal tracts of rats and humans. Endocrinology 2000;141:4255-61.

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	

(104960-003) M0758/EFG/KRM/12.01.06 p. 4/4

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