

**Monoclonal Mouse  
Anti-Human  
Wilms' Tumor 1 (WT1) Protein  
Clone 6F-H2**

**ENGLISH**  
**Code M3561**

**Intended use**

For In Vitro Diagnostic Use.

**Summary and explanation**

*WT1* is a gene involved in the induction of Wilms' tumor, a pediatric renal malignancy. The *WT1* gene, located on chromosome 11p13, is inactivated in 5 to 10% of sporadic Wilms' tumors and nearly 100% of Denys-Drash patients, a syndrome associated with genitourinary abnormalities and Wilms' tumor. *WT1* encodes a zinc finger transcription factor which recognizes the early growth response (EGR-1) consensus sequence found in promoters of growth factor genes. The protein encoded by *WT1* regulates transcription of other genes and can function both as a transcriptional activator and repressor. *WT1* has been demonstrated to repress transcription of various growth-related genes such as platelet-derived growth factor A chain (*PDGF-A*) and insulin-like growth factor (*IGF*).<sup>3-5</sup> The transcriptional activity of this protein, however, can be modulated through physical interactions between *WT1* and p53. In the absence of wild type p53, *WT1* has been demonstrated to function as a transcriptional activator of the *EGR-1* promoter in transfection assays.<sup>6</sup>

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-human *WT1*, 6F-H2 is a mouse monoclonal antibody supplied in liquid form 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.

Clone: 6F-H2<sup>1,2</sup> Isotype: IgG<sub>1</sub>, kappa  
Mouse IgG concentration mg/L: See label on vial.

Anti-human *WT1* may be used at a dilution of 1:50 in the LSAB<sup>TM</sup>+ method determined on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. These are guidelines only; optimal dilutions should be determined by the individual laboratory.

**Immunogen**

Truncated human *WT1* protein corresponding to N-terminal amino acids 1–181<sup>1,2</sup>

**Specificity**

Alternate splicing of the *WT1* transcript gene results in four distinct mRNA species which are present in different amounts. The predicted molecular weight of the *WT1* protein ranges from 46 to 49 kD depending on the mRNA species however, the *WT1* proteins derived from cells migrate at 50 to 55 kD in SDS-PAGE.<sup>4</sup> Monoclonal mouse anti-human *WT1* (anti-*WT1*) recognizes an epitope found in the amino terminal 84 amino acids of *WT1*. Anti-*WT1* reacts with all isoforms of the full-length *WT1* and also identifies *WT1* lacking exon 2, frequently found in subsets of sporadic Wilms' tumors. In immunoprecipitation assays, anti-*WT1* has been shown to recognize full-length and *in vitro* translated *WT1*. Anti-*WT1* also detects full-length denatured *WT1* (55 kD) in Western blots of *WT1* baculovirus-infected cell lysates.<sup>1</sup>

**Materials required, but not supplied**

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* and/or the detection system instructions.

**Precautions**

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, NaN<sub>3</sub> 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-human WT1 can be used on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue sections should be pretreated with a 0.4% pepsin solution in 0.2 N HCl for 30 minutes at 37°C. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Silanized Slides (code S3003) is recommended.

### Cryostat Sections and Cell Smears

Anti-human WT1 can also be used to label cryostat sections or cell smears.

## Staining procedure

Follow the recommended procedure for the detection system selected.

## Staining interpretation

The cellular staining pattern for anti-WT1 is nuclear and/or cytoplasmic.

## Performance characteristics

### Normal Cells

WT1 mRNA is strongly expressed in mesenchymally derived tissue. During embryonic development, WT1 expression has been observed in human kidney, spleen, and gonadal ridge mesoderm and the mesothelial lining of the coelomic cavity and the organs contained within.<sup>7</sup> WT1 gene expression in adult human tissues has been observed in sertoli cells of testes, decidual cells of the uterus and in granulosa cells of the ovary. A number of other adult tissues were shown to contain WT1 transcripts including pleura, spleen, heart, foreskin, endometrium, and glomerular epithelium of the kidney.<sup>7,8</sup> Antibodies to WT1, including clone 6F-H2, have been demonstrated to stain the cytoplasm of the following normal cells in some tissue specimens. Cytoplasmic staining of blood vessels and connective tissue of lung alveoli were observed to stain positively.<sup>8</sup> Granular cytoplasmic staining has also been reported in mature myelocytic cells.<sup>11</sup>

### Tumor Cells

High levels of WT1 expression have been demonstrated in the epithelial and blastemal components of Wilms' tumors, whereas stromal elements were found to be expressed at very low levels.<sup>10</sup> The majority of malignant mesotheliomas were found to be strongly express WT1 message and also the gene product. The WT1 protein was immunolocalized, using anti-WT1 (clone 6F-H2), to the nuclei of malignant mesothelioma cells.<sup>8,9</sup> WT1 gene and protein expression have also been demonstrated in the majority of acute leukemias but not in cells from chronic myelogenous leukemia, except when in blast crisis. Anti-WT1 immunostained the nuclei of leukemia blast cells but was unreactive with normal mononuclear cells and normal peripheral CD34+ hematopoietic progenitor cells.<sup>11,11</sup> WT1 mRNA expression has been reported in a number of other tumors including melanomas, ovarian cancer and sex cord-stromal tumors.<sup>11-14</sup> In addition to specific nuclear immunoreactivity, antibodies to WT1 (including clone 6F-H2) have been reported to stain the cytoplasm of tumor cells in some cases of adenocarcinoma and the desmoplastic stroma and basement membrane of some carcinoma specimens. Perinuclear staining of tumor cells in malignant mesothelioma has also been observed.<sup>9</sup> This cytoplasmic staining may represent cross-reactivity with an epitope unrelated to WT1.<sup>9,11</sup>

---

## FRANÇAIS

### Code M3561

## Intérêt

Pour diagnostic in vitro.

## Résumé et explication du test

WT1 est un gène impliqué dans l'induction du néphroblastome (tumeur de Wilms), un cancer rénal pédiatrique. Le gène WT1, situé sur le chromosome 11p13, est inactivé dans 5 à 10 % des tumeurs de Wilms isolées et dans près de 100 % des cas de syndrome de Denys-Drash, qui est associé à des anomalies génito-urinaires et au néphroblastome. WT1 code pour un facteur de transcription à doigts de zinc qui reconnaît la séquence consensus du gène à réponse précoce EGR-1 située sur les promoteurs des gènes du facteur de croissance. La protéine encodée par WT1 régule la transcription des autres gènes et elle peut agir à la fois comme activateur et comme répresseur transcriptionnel. WT1 réprime la transcription de différents gènes de croissance, tels que le facteur de croissance dérivé des plaquettes, chaîne A (PDGF-A) et la somatomédine (IGF).<sup>3-5</sup> L'activité transcriptionnelle de cette protéine peut toutefois être modulée par des interactions physiques entre WT1 et p53. En l'absence de p53 de type sauvage, WT1 a agi comme activateur transcriptionnel du promoteur d'EGR-1 dans les essais de transfection.<sup>6</sup>

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.

## Réactif fourni

Anti-human WT1, 6F-H2 est un anticorps monoclonal de souris fourni sous forme de surnageant de culture cellulaire (contenant du sérum de veau fœtal) dialysé contre une solution Tris/HCl à 0,05 mol/L, à pH 7,2 et de l'azide de sodium à 0,015 mol/L.

Clone: 6F-H2<sup>1,2</sup> Isotype: IgG<sub>1</sub>, kappa

Concentration en IgG de souris, en mg/L : Se reporter à l'étiquette du flacon.

Anti-human WT1 peut être dilué à 1:50 pour les déterminations par méthodes LSAB™+ sur des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées par le formol. Il ne s'agit que de recommandations ; les dilutions optimales doivent être déterminées par chaque laboratoire.

Concentration en IgG de souris, en mg/L: Se reporter à l'étiquette du flacon.

## Immunogène

Protéine WT1 humaine tronquée correspondant aux acides aminés 1-181 de l'extrémité N-terminale<sup>1,2</sup>

## Spécificité

L'épissage alternatif du gène de transcription *WT1* aboutit à quatre espèces distinctes d'ARNm qui sont présentes en différentes quantités. La masse moléculaire prédite de la protéine *WT1* est comprise entre 46 et 49 kDa selon le type d'ARNm, mais les protéines *WT1* dérivées des cellules migrent à 50–55 kDa en SDS-PAGE.<sup>4</sup> Monoclonal mouse anti-human *WT1* (anti-*WT1*) reconnaît un épitope situé sur les 84 acides aminés terminaux de *WT1*. Anti-*WT1* réagit avec tous les isoformes de *WT1* complet et il identifie également un exon 2 dépourvu de *WT1*, que l'on trouve couramment dans des sous-familles de néphroblastomes sporadiques. Dans les analyses par immunoprécipitation, anti-*WT1* a reconnu le *WT1* pleine longueur et celui ayant subi une translation *in vitro*. Anti-*WT1* détecte également *WT1* pleine longueur dénaturé (55 kDa) en transfert de type Western de lysats cellulaires *WT1* infectés par des baculovirus.<sup>1</sup>

## Matériel nécessaire mais non fourni

Se référer aux Dako's *Instructions Générales relatives à la procédure de Marquage Immunohistochimique* et/ou aux instructions du système de détection.

## Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, le NaN<sub>3</sub> 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 de l'échantillon

### Coupes en paraffine

Anti-human *WT1*, peut être utilisé sur des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées par le formol. Les coupes de tissu doivent être préchauffées à 37 °C pendant 30 minutes dans une solution de pepsine à 0,4 % dans du HCl à 0,2 N. Il est recommandé d'utiliser les lames silanisées (code S3003) pour une meilleure adhérence des coupes de tissu sur les lames en verre.

### Sections de cryostat et frottis cellulaires

Anti-human *WT1* peut également être utilisé pour marquer des sections de cryostat et des frottis cellulaires.

## Procédure d'immunomarquage

Suivre la procédure recommandée pour le système de détection choisi.

## Interprétation de la coloration

Le profil de coloration cellulaire pour anti-*WT1* est nucléaire et/ou cytoplasmique.

## Performances

### Cellules normales

L'ARNm de *WT1* est fortement exprimé dans les tissus d'origine mésenchymateuse. Pendant le développement embryonnaire, l'expression de *WT1* a été observée dans le mésoderme du rein, de la rate et de la crête gonadique humains et dans la membrane mésothéliale de la cavité coelomique et des organes situés dans celle-ci.<sup>7</sup> Dans les tissus humains adultes, le gène *WT1* a été exprimé dans les cellules de Sertoli du testicule, les cellules déciduales de l'utérus et dans la granulosa de l'ovaire. Des produits de transcription de *WT1* ont également été détectés dans différents autres tissus adultes, notamment la plèvre, la rate, le cœur, le prépuce, l'endomètre et l'épithélium glomérulaire du rein.<sup>7,8</sup> Des anticorps anti-*WT1*, dont le clone 6F-H2, ont marqué le cytoplasme des cellules normales suivantes dans certains échantillons de tissu. Une coloration cytoplasmique positive a été observée dans les vaisseaux sanguins et le tissu conjonctif des alvéoles pulmonaires.<sup>8</sup> Une coloration cytoplasmique granulaire a également été observée dans les cellules myélocyaires matures.<sup>11</sup>

### Cellules tumorales

De hauts niveaux de l'expression de *WT1* ont été observés dans les composants épithéliaux et blastémaux des néphroblastomes, tandis que les éléments stromaux étaient exprimés à des niveaux très faibles.<sup>10</sup> La majorité des mésothéliomes malins ont fortement exprimé le message *WT1* ainsi que le produit génique. La protéine *WT1* a été immunodétectée à l'aide de l'anticorps anti-*WT1* (clone 6F-H2) sur le noyau des cellules de mésothéliome malin.<sup>8,9</sup> L'expression du gène *WT1* et de la protéine a également été démontrée dans la majorité des leucémies aiguës mais pas dans les cellules de leucémie myélogène chronique, sauf en cas de crise blastique. Anti-*WT1* a marqué le noyau de cellules blastiques de leucémie mais n'a pas réagi avec des cellules mononucléaires et des cellules souches hématopoïétiques CD34+ périphériques normaux.<sup>1,11</sup> L'ARNm de *WT1* a été exprimé dans différentes autres tumeurs, notamment des mélanomes, des cancers de l'ovaire et des tumeurs stromales du cordon spermatique.<sup>11-13</sup> En plus d'une immunoréactivité nucléaire spécifique, les anticorps anti-*WT1* (dont le clone 6F-H2) ont marqué le cytoplasme de cellules tumorales dans certains cas d'adénocarcinomes et le stroma desmoplastique et la membrane basale de certains échantillons de carcinomes.

Une coloration périnucléaire de cellules tumorales a également été observée dans des mésothéliomes malins.<sup>9</sup> Il est possible que ce marquage cytoplasmique représente une réactivité croisée avec un épitope sans relation avec *WT1*.<sup>9,11</sup>

---

**DEUTSCH**  
**Code M3561**

**Zweckbestimmung**

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

**Zusammenfassung und Erläuterung**

*WT1* ist ein Gen, das an der Induktion des Wilms-Tumors, einer bösartigen Nierenerkrankung bei Kindern, beteiligt ist. Das *WT1*-Gen ist auf Chromosom 11p13 lokalisiert und wird bei 5 bis 10% der sporadischen Wilms-Tumore und bei nahezu 100% der Patienten mit Denys-Drash-Syndrom, für das urogenitale Abnormalitäten und Wilms-Tumor kennzeichnend sind, inaktiviert. *WT1* kodiert einen Zinkfinger-Transkriptionsfaktor, der die Early-Growth-Response (EGR-1)-Consensus-Sequenz, die sich auf den Promotoren von Wachstumsfaktor-Genen befindet, erkennt. Das durch *WT1* kodierte Protein reguliert die Transkription anderer Gene und kann sowohl als Transkriptionsaktivator wie auch -repressor fungieren. *WT1* reprimiert nachweislich die Transkription verschiedener Wachstumsgene wie z.B. der A-Kette des Platelet Derived Growth Factor (Plättchenwachstumsfaktor) (*PDGF-A*) und des Insulin-like Growth Factors (insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor) (*IGF*).<sup>3-5</sup> Die Transkriptionsaktivität dieses Proteins kann jedoch durch physikalische Interaktionen zwischen *WT1* und p53 moduliert werden. In Abwesenheit des Wildtyps p53 erwies sich *WT1* als Transkriptionsaktivator des EGR-1-Promoters in Transfektionsassays.<sup>6</sup>

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen 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.

**Geliefertes Reagenz**

Anti-Human-*WT1*, 6F-H2, ist ein monoklonaler Mausantikörper und wird in flüssiger Form als Gewebekulturüberstand (mit fetalem bovinen Serum) geliefert, der gegen 0,05 mol/L Tris-HCl, pH-Wert 7,2, dialysiert wurde und 0,015 mol/L NaN<sub>3</sub> enthält.

Klon: 6F-H2<sup>1,2</sup> Isotyp: IgG<sub>1</sub>, Kappa  
Maus-IgG-Konzentration mg/L: Siehe Produktetikett

Anti-Human-*WT1* kann mit der LSAB-Methode in einer Verdünnung von 1:50 für formalinfixierte, paraffineingebettete Gewebeschnitten verwendet werden. Bei diesem Verdünnungswert handelt es sich lediglich um eine Richtlinie; die optimalen Verdünnungen sollten von jedem einzelnen Labor bestimmt werden.

**Immunogen**

Verkürztes menschliches, den N-terminalen Aminosäuren 1-181 entsprechendes *WT1*-Protein<sup>1,2</sup>

**Spezifität**

Das alternative Spleißen des *WT1*-Transkriptionsgens resultiert in vier unterschiedlichen mRNA-Spezies, die in unterschiedlichen Mengen vorliegen. Das erwartete Molekulargewicht des *WT1*-Proteins liegt je nach mRNA-Spezies zwischen 46 und 49 kD. Die aus Zellen gewonnenen *WT1*-Proteine bewegen sich jedoch in SDS-PAGE zwischen 50 und 55 kD.<sup>4</sup> Monoklonales Maus-Anti-human *WT1* (Anti-*WT1*) erkennt ein Epitop, das sich in den 84 aminoterminalen Aminosäuren von *WT1* befindet. Anti-*WT1* reagiert mit allen Isoformen des vollständigen *WT1* und identifiziert ebenfalls Exon 2-freies *WT1*, das häufig in Untergruppen sporadischer Wilms-Tumore gefunden wird. Mittels Immunpräzipitationsassays wurde gezeigt, dass Anti-*WT1* sowohl ungekürztes wie auch *in vitro* translatiertes *WT1* erkennt. In Western Blots von mit *WT1* Baculovirus infizierten Zellysaten detektiert Anti-*WT1* ebenso unverkürztes, denaturiertes *WT1* (55 kD),<sup>1</sup>

**Benötigtes Material, welches nicht mitgeliefert wird**

Siehe *Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako und/oder Anweisungen des Detektionssystems.

**Vorsichtsmaßnahmen**

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN<sub>3</sub>), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von NaN<sub>3</sub> 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.

**Probenvorbereitung**

*Paraffinschnitte*

Anti-Human-*WT1* kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten genutzt werden. Gewebeschnitte sollten mit einer 0,4%igen Pepsinlösung in 0,2 N HCl 30 Minuten lang bei 37 °C vorbehandelt werden. Um eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Objektträgern zu gewährleisten, werden Silanized Slides (Code S3003) (*silanisierte Objektträger*) empfohlen.

*Kryostatschnitte und Zellabstriche*

Anti-Human-*WT1* kann ebenfalls zur Färbung von Kryostatschnitten oder Zellabstrichen verwendet werden.

## Färbeprozedur

Es ist dem für das ausgewählte Detektionssystem empfohlenen Verfahren zu folgen..

## Interpretation des Färbeergebnisses

Anti-WT1 weist ein nukleäres und/oder zytoplasmatisches zelluläres Färbemuster auf.

## Leistungseigenschaften

### Normale Zellen

WT 1-mRNA wird stark in Geweben mesenchymalen Ursprungs exprimiert. Während der Embryonal-Entwicklung wurde die Expression von WT1 in folgenden menschlichen Geweben beobachtet: Niere und Milz, Mesoderm der Genitalleiste sowie die Mesothelauskleidung der Zölmhöhle und den sich darin befindlichen Organen.<sup>7</sup> Eine WT1-Genexpression in menschlichen erwachsenen Geweben wurde in Sertoli-Zellen der Testes, Dezidualzellen des Uterus und in Granulosazellen der Ovarien beobachtet. In einer Anzahl weiterer Gewebe von Erwachsenen wurden WT1-Transkripte nachgewiesen, darunter Pleura, Milz, Herz, Vorhaut, Endometrium und glomeruläres Epithel der Niere.<sup>7,8</sup> Antikörper gegen WT1, einschließlich Klon 6F-H2, färben nachweislich das Zytoplasma der folgenden Normalzellen in einigen Gewebeproben. Eine positive Färbung zeigte sich als zytoplasmatische Färbung von Blutgefäßen und von Bindegewebe der Lungenbläschen.<sup>8</sup> Eine granuläre zytoplasmatische Färbung wurde ebenfalls in reifen Myelozyten beobachtet.<sup>11</sup>

### Tumorzellen

Eine starke WT1-Expression wurden in den Epithel- und Blastemkomponenten des Wilms-Tumors nachgewiesen, wohingegen die Expression in den Stromalen Elementen nur zu einem sehr geringen Grad stattfand.<sup>10</sup> Die Mehrheit der malignen Mesotheliome zeigte eine starke Expression von WT1 und des Genprodukts. Das WT1-Protein wurde mithilfe von Anti-WT1 (Klon 6F-H2) an den Nuklei maligner Mesothelzellen immunlokalisiert.<sup>8,9</sup> Eine WT1-Gen- und Proteinexpression wurde ebenfalls bei der Mehrheit akuter Leukämien nachgewiesen, nicht aber in Zellen chronischer myelogener Leukämie, außer während einer Blastenkrise. Anti-WT1 bewirkte eine Immunfärbung der Nuklei von leukämischen Blasten, war jedoch gegenüber normalen mononukleären Zellen und normalen peripheren hämatopoetischen CD34+ Vorläuferzellen nicht reaktiv.<sup>11</sup> Eine WT1-mRNA-Expression wurde in zahlreichen anderen Tumoren, einschließlich Melanom, Ovarialkarzinom und Keimstrang-Stromatumor vorgefunden.<sup>11-13</sup>









Antikörper gegen WT1 (einschließlich Klon 6F-H2) weisen eine spezifische nukleäre Immunreaktivität auf und färben darüber hinaus das Zytoplasma von Tumorzellen mancher Adenokarzinome und das desmoplastische Stroma sowie die Basalmembran einiger Karzinomgewebe. Eine perinukleäre Färbung von Tumorzellen in malignen Mesotheliomen wurde ebenfalls beobachtet.<sup>9</sup> Diese zytoplasmatische Färbung deutet möglicherweise auf eine Kreuzreaktivität mit einem nicht mit WT1 verwandten Epitop hin.<sup>9,11</sup>

## References

### Références

### Literatur

1. Rauscher JF, Morris JF, Fredericks WJ, Lopez-Guisa J, Balakrishnan C, Jost M, Herlyn M, Rodeck U. Characterization of monoclonal antibodies directed to the amino-terminus of the WT1, Wilms' tumor suppressor protein. *Hybridoma* 1998; 17:191
2. Menssen HD, et al. Presence of Wilms' tumor (*wt1*) transcripts and the WT1 nuclear protein in the majority of human acute leukemias. *Leukemia* 1995; 9:1060
3. Coppes MJ, et al. The role of *WT1* in Wilms tumorigenesis. *FASEB J* 1993; 7:886
4. Haber DA and Buckler AJ. *WT1*: A novel tumor suppressor gene inactivated in Wilms' tumor. *New Biol* 1992; 4(2):97
5. Rauscher FJ. The WT1 Wilms tumor gene product: A developmentally regulated transcription factor in the kidney that functions as a tumor suppressor. *FASEB J* 1993; 7:896
6. Maheswaran S, et al. Physical and functional interaction between WT1 and p53 proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:5100
7. Pritchard-Jones K, et al. The candidate Wilms' tumour gene is involved in genitourinary development. *Nature* 1990; 346:194
8. Amin KM, et al. Wilms' tumor 1 susceptibility (*WT1*) gene products are selectively expressed in malignant mesothelioma. *Amer J Pathol* 1995; 146(2):344
9. Kumar-Singh S, et al. *WT1* mutation in malignant mesothelioma and WT1 immunoreactivity in relation to *p53* and growth factor receptor expression, cell-type transition, and prognosis. *J Pathol* 1997; 181:67
10. Varansi R, et al. Fine structure analysis of the *WT1* gene in sporadic Wilms tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:3554
11. Menssen HD, et al. Detection by monoclonal antibodies of the Wilms' tumor (*WT1*) nuclear protein in patients with acute leukemia. *Intl J Canc* 1997; 70:518
12. Bruening W, et al. Analysis of the 11p13 Wilms' tumor suppressor gene (*WT1*) in ovarian tumors. *Canc Invest* 1993; 11(4):393
13. Rodeck U, et al. Expression of the *WT1* Wilms' tumor gene by normal and malignant human melanocytes. *Intl J Canc* 1994; 59:78
14. Coppes MJ, et al. Analysis of *WT1* in granulosa cell and other sex cord-stromal tumors. *Canc Res* 1993; 53:2712

 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	 Batch code Code du lot Chargenbezeichnung	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
 Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU	 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

  
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