

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Glial Fibrillary Acidic Protein**
Clone 6F2
Code No./ Code/ Code-Nr. M 0761
Edition/ Edition/ Ausgabe 13.08.03





ENGLISH	
Intended use	For in vitro diagnostic use. Monoclonal Mouse Anti-Human Glial Fibrillary Acidic Protein, Clone 6F2, is intended for use in immunocytochemistry. The antibody labels glial fibrillary acidic protein (GFAP) and may be a useful tool for the identification of astrocytes and astrocytic cells under normal and pathological conditions (1). 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.
Introduction	GFAP is a 50 kDa intracytoplasmic filamentous protein that constitutes a portion of the cytoskeleton in astro-cytes, and it has proved to be the most specific marker for cells of astrocytic origin. In the central rod domain of the molecule, GFAP shares considerable structural homology with the other intermediate filaments (2). Functionally, GFAP is thought to be important in astrocyte motility and shape by providing structural stability to astrocytic processes (3). Following injury to the human CNS caused by trauma, genetic disorders, or chemicals, astrocytes proliferate and show extensive hypertrophy of the cell body and processes, and GFAP is markedly upregulated. In contrast, with increasing astrocyte malignancy, there is a progressive loss of GFAP production. Thus, malignant astrocytomas have fewer tumour cells that stain positively and intensely for GFAP than do less malignant astrocytomas and normal brain specimens (3). Outside the CNS, sensitive detection methods may demonstrate GFAP in Schwann cells, enteric glia cells, salivary gland neoplasms, and metastasizing renal carcinomas. Additionally, GFAP has been demonstrated in epiglottic cartilage, pituicytes, immature oligodendrocytes, papillary meningiomas (3), and myoepithelial cells of the breast (4).
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> 6F2. <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Mouse IgG concentration:</u> See label on vial.
Immunogen	GFAP from human brain.
Specificity	As demonstrated by immunocytochemistry, the antibody labels GFAP in astrocytes and cells of astrocytic origin (1, 5, 6).
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.
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 heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with DakoCytomation Target Retrieval Solution, code No. S 1700, DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9.0, code No. S 2368, DakoCytomation Target Retrieval Solution, High pH, code No. S 3308, or 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0. Pre-treatment of tissues with DakoCytomation Proteinase K, code No. S 3020, was found destructive of the epitope. 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 acetone fixed, frozen sections.
Staining procedure	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human Glial Fibrillary Acidic Protein, code No. M 0761, may be used at a dilution range of 1:50-1:100 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human brain and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in DakoCytomation Target Retrieval Solution, code No. S 1700 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 Mouse IgG1, code No. X 0931, 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 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 4004 and K 4006, are recommended. For frozen sections and cell preparations, the DakoCytomation APAAP kit, code No.

K 0670, is a good alternative if endogenous peroxidase staining is a concern. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

FRANÇAIS	
Intérêt	Pour diagnostic in vitro. L'anticorps monoclonal de souris anti-protéine gliale fibrillaire acide humaine, clone 6F2, est destiné à être utilisé en immunocytochimie. L'anticorps marque la protéine gliale fibrillaire acide humaine (GFAP) et peut constituer un instrument commode pour l'identification des astrocytes et des cellules astrocytaires dans des états normaux et pathologiques (1). L'identification différentielle s'appuie sur les résultats obtenus à l'aide d'un panel d'anticorps. L'interprétation doit être effectuée dans un contexte tenant compte des antécédents cliniques du patient et d'autres analyses diagnostiques réalisées par un pathologiste qualifié.
Introduction	La GFAP est une protéine filamenteuse intracytoplasmique de 50 kDa qui constitue une partie du cytosquelette des astrocytes, il a été montré qu'elle constituait le marqueur le plus spécifique des cellules d'origine astrocytaire. Au niveau du domaine central encloué de la molécule, la GFAP partage une homologie structurale importante avec les autres filaments intermédiaires (2). Sur le plan fonctionnel, la GFAP jouerait un rôle important dans la motilité et la forme des astrocytes en apportant la stabilité structurale aux appendices astrocytaires (3). Après une lésion du SNC humain provoquée par un traumatisme, des troubles génétiques ou chimiques, les astrocytes prolifèrent et présentent une hypertrophie importante du corps et des appendices cellulaires et la GFAP est surrégulée de façon marquée. Au contraire, avec l'augmentation de la malignité astrocytaire, il y a une perte progressive de la production de GFAP. Par conséquent, les astrocytomes malins présentent moins de cellules tumorales marquées positivement et intensément pour la GFAP que les astrocytomes moins malins et les spécimens de cerveaux normaux (3). Hors du SNC, des méthodes de détection sensibles ont mis en évidence la GFAP dans les cellules de Schwann, les cellules gliales entériques, les néoplasmes des glandes salivaires et les carcinomes rénaux métastasés. De plus, la GFAP a été mise en évidence dans le cartilage de l'épiglotte, les pituicytes, les oligodendrocytes immatures, les méningiomes papillaires (3) et les cellules myoépithéliales mammaires (4).
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> 6F2. <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Concentration en IgG de souris:</u> Voir l'étiquette sur le flacon.
Immunogène	GFAP provenant de cerveau humain.
Spécificité	Comme le montre l'immunocytochimie, l'anticorps marque la GFAP dans les astrocytes et les cellules d'origine astrocytaires (1,5,6).
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.
Stockage	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 avec restauration des épitopes induite par la chaleur est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus avec la solution de restauration des cibles DakoCytomation, code S 1700, la solution de restauration des cibles DakoCytomation à 9,0 de pH, code S 2368, la solution de restauration des cibles DakoCytomation à pH élevé, code S 3308 et le tampon citrate 10 mmol/l, à 6,0 de pH. Le prétraitement des tissus par la protéinase K DakoCytomation, code S 3020, a détruit l'épitope. 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, fixées à l'acétone.

Procédure d’immunomarquage	Dilution: L’anticorps monoclonal de souris anti-protéine gliale fibrillaire acide humaine, code M 0761, peut être utilisé dans une gamme de dilution allant du 1:50 au 1:100 quand il est appliqué sur des coupes sous paraffine, fixées par le formol, de cerveau humain et en utilisant une restauration de l’épitope induite par la chaleur d’une durée de 20 minutes dans la solution de restauration de la cible DakoCytomation, code S 1700, 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 DakoCytomation, n° de code X 0931, 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 DakoCytomation, n° de code S 0809. Les contrôles positif et négatif doivent être accomplis en même temps que les spécimens du patient.
Performances	Les cellules marquées par l’anticorps présentent une coloration confinée au cytoplasme. Tissus normaux: L’anticorps marque les astrocytes et les cellules astrocytaires du cerveau (1). Tissus anormaux: L’anticorps a fortement marqué les cellules astrocytaires dans le cœur dense des plaques lors de la maladie d’Alzheimer, en cas de maladie de Creutzfeld-Jakob, d’encéphalite due au VIH, d’infarctus cérébral, d’astrocytome pilocytique et de glioblastome. Un marquage faible à modéré a été observé de façon diffuse dans les cas de démence à corps de Lewy et de gliose chronique ainsi que chez les sujets de contrôle. Aucun marquage n’a été observé au niveau des plaques diffuses en cas de maladie d’Alzheimer (1). Au cours des glioblastomes, l’anticorps a marqué 18 (75 %) cas sur 24 (5). Au cours d’une autre étude, l’anticorps a marqué les astrocytomes pilocytiques juvéniles et les astrocytomes anaplasiques, alors que de nombreux glioblastomes ont montré des zones dédifférenciées présentant un faible marquage par l’anticorps (6).

DEUTSCH	
Zweckbestimmung	Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen. Monoclonal Mouse Anti-Human Glial Fibrillary Acidic Protein, Clone 6F2, ist für den immunzytochemischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper markiert fibrilläres saures Gliaprotein (GFAP) und kann für die Identifizierung von Astrozyten sowie von astrozytären Zellen bei normalen und krankhaften Zuständen nützlich sein (1). Die differenzielle Identifizierung wird durch die mit einer Gruppe von Antikörpern erhaltenen Resultate unterstützt. Die Interpretation muss unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren durch einen erfahrenen Pathologen erfolgen.
Einleitung	GFAP ist ein 50 kD schweres intrazytoplasmatisches Filamentprotein, welches einen Teil des Zellgerüstes der Astrozyten bildet und erwies sich als der spezifischste Marker von Zellen astrozytärer Abstammung. In der zentralen stabartigen Domäne des Moleküls weist GFAP eine beträchtliche gemeinsame strukturelle Homologie mit anderen Intermediärfilamenten auf (2). Funktionell soll GFAP für die Motilität und Form der Astrozyten von Wichtigkeit sein und verleiht den Fortsätzen der Astrozyten ihre bauliche Stabilität (3). Nach Verletzungen des humanen zentralen Nervensystems durch Trauma, genetische Krankheiten oder chemische Substanzen proliferieren die Astrozyten und der Zellkörper sowie die Fortsätze hypertrophieren stark, wobei GFAP deutlich hochreguliert wird. Demgegenüber, lässt die Produktion des GFAP bei zunehmender maligner Entartung der Astrozyten progressiv nach. Daher gibt es in malignen Astrozytomen weniger GFAP-positiv markierte Tumorzellen und die Färbungsintensität ist schwächer als in weniger malignen Astrozytomen bzw. in Proben aus normalem Hirngewebe (3). Außerhalb des ZNS können empfindliche Nachweismethoden GFAP in Schwann-Zellen, enterischen Gliazellen, Neoplasien der Speicheldrüsen und metastasierenden Nierenkarzinomen entdecken. Darüber hinaus wurde GFAP im Knorpel der Epiglottis, in Pituizyten, unreifen Oligodendrozyten, papillären Meningiomen (3) und Myoepithelien der Brust nachgewiesen werden (4).
Geliefertes Reagenz	Der monoklonale Mausantikörper wird in flüssiger Form als Zellkulturüberstand geliefert, wurde gegen 0,05 mol/L Tris/HCl, pH-Wert 7,2 dialysiert und enthält 15 mmol/L NaN ₃ . Klon: 6F2. Isotyp: IgG1, Kappa. Maus-IgG-Konzentration: Siehe Produktetikett.
Immunogen	GFAP aus humanen Gehirnen.
Spezifität	Wie immunzytochemisch nachgewiesen, markiert der Antikörper GFAP in Astrozyten und in Zellen astrozytärer Abstammung (1, 5, 6).
Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen	1. Für geschultes Fachpersonal. 2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN ₃), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Abflussinstallationen vorhandenem Blei und Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metall-Azid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung in Abflussrohren zu vermeiden. 3. Wie bei allen aus biologischen Quellen stammenden Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.
Lagerung	Bei 2 – 8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Fläschchen 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.
(104698-001)	M 0761/EFG/CE/13.08.03 p. 3/4
DakoCytomation 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	

	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 Kontakt mit unserem Technischen Kundendienst aufzunehmen.		
Probenvorbereitung	Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, formalinfixierten histologischen Schnitten genutzt werden. Die Vorbehandlung der Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Ergebnisse werden mit der DakoCytomation Target Retrieval Solution, Code-Nr. S 1700, DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9,0, Code-Nr. S 2368, DakoCytomation Target Retrieval Solution, High pH, Code Nr. S 3308 oder mit 10 mmol/L Zitratpuffer, pH 6,0 erzielt. Die Vorbehandlung der Gewebe mit DakoCytomation Proteinase K, Code Nr. S 3020, hat sich für das Epitop als zerstörerisch erwiesen. Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung bzw. während der anschließenden immunzytologischen Färbung nicht austrocknen. Gefrierschnitte und zytologische Präparate: Der Antikörper kann für die Markierung azetonfixierter Gefrierschnitte genutzt werden.		
Färbeprozedur	Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human Glial Fibrillary Acidic Protein, Code Nr. M 0761, kann im Verdünnungsbereich von 1:50-1:100 eingesetzt werden, wenn es für formalinfixierte, paraffineingebettete Schnitte des menschlichen Gehirns genutzt wird und wenn 20 Minuten lang die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit DakoCytomation Target Retrieval Solution, Code-Nr. S 1700, 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 DakoCytomation Mouse IgG1, Code-Nr. X 0931, das 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 DakoCytomation Antibody Diluent, Code-Nr. S 0809, vorzunehmen. Positiv- und Negativkontrollen müssen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Visualisierung: Folgende Kits werden empfohlen: DAKO LSAB™+/HRP-Kit, Code-Nr. K 0679 und DAKO EnVision™+/HRP-Kits, Code-Nr. K 4004 und K 4006. Falls bei Gefrierschnitten und Zellpräparaten Probleme mit endogener Peroxidasefärbung auftreten, bietet der DakoCytomation APAAP Kit, Code-Nr. K 0670, 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 weisen eine Färbung auf, die auf das Zytoplasma beschränkt ist. Normalgewebe: Der Antikörper markiert Astrozyten und astrozytäre Zellen im Gehirn (1). Anomales Gewebe: Der Antikörper markierte sehr stark astrozytäre Zellen in den dichten zentralen Plaques bei Alzheimer-Krankheit, Creutzfeldt-Jakob-Krankheit, HIV-Encephalitis, Hirninfarkten, pilozytären Astrozytomen und Glioblastomen. Schwache bis mäßige Markierung wurde bei diffuser Lewy-Körperchen-Erkrankung, chronischer Gliosis sowie in als Kontrolle dienenden Individuen gefunden. Diffuse Plaques in Alzheimer-Krankheit zeigten keine Markierung (1). Von Glioblastomen, markierte der Antikörper 18/24 (75 %) Fälle (5). In einer anderen Studie markierte der Antikörper jugendliche pilozytäre Astrozytome und anaplastische Asrozytome, während einige Glioblastome dedifferenzierte Bezirke mit schwacher Markierung zeigten (6).		
References/ Références/ Literatur			
	<ol style="list-style-type: none">Leroy K, Duyckaerts C, Bovekamp L, Müller O, Anderton BH, Brion JP. Increase of adenomatous polyposis coli immunoreactivity is a marker of reactive astrocytes in Alzheimer’s disease and in other pathological conditions. Acta Neuropathol 2001;102:1-10. Rutka JT, Murakami M, Dirks PB, Hubbard SL, Becker LE, Fukuyama K, et al. Role of glial filaments in cells and tumors of glial origin: a review. J Neurosurg 1997;87:420-30. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein:GFAP-thirty-one years (1969-2000). Neurochem Res 2000;25:1439-51. Viale G, Gambacorta M, Coggi G, Dell’Orto P, Milani M, Doglioni C. Glial fibrillary acidic protein immunoreactivity in normal and diseased human breast. Virchows Arch A Pathol Anat 1991;418:339-48. Sembritzki O, Hagel C, Lamszus K, Deppert W, Bohn W. Cytoplasmic localization of wild-type p53 in glioblastomas correlates with expression of vimentin and glial fibrillary acidic protein. Neuro-Oncol 2002;4:171-78. Ylagan LR, Quinn B. CD44 expression in astrocytic tumors. Mod Pathol 1997;10:1239-46.		
Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole			
REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 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
(104698-001)	M 0761/EFG/CE/13.08.03 p. 4/4		
DakoCytomation 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			