

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Cytokeratin 10
Clone DE-K10
Code No./ Code/ Code-Nr. M 7002
Edition/ Ausgabe 24.03.03**

ENGLISH

Intended use	For in vitro diagnostic use. Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 10, Clone DE-K10, is intended for use in immunocytochemistry. The antibody labels all suprabasal cells in the epidermis and is a useful tool for the identification of more differentiated squamous cell carcinomas (1, 2). 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	The cytokeratins (CKs) belong to the intermediate filaments, which create a cytoskeleton in almost all eukaryotic cells. In contrast to other intermediate filaments, CKs are made up of a highly complex multigene family of polypeptides with molecular masses ranging from 40 to 68 kDa. CKs are generally held to belong to the most fundamental markers of epithelial differentiation, and until now, 20 distinct CK polypeptides have been revealed in various human epithelia (3). The CKs can be divided into an acidic type A (class I) and a neutral-basic type B (class II) subfamily. CK 10 is an intermediate-sized, acidic type I cytokeratin, with a molecular mass of 56.5 kDa, expressed in all suprabasal cells simultaneously with CK 1 but is absent in basal cells. Together, CK 1 and CK 10 represent some of the first markers of epidermal differentiation (1, 4). CK 10 has been implicated as marker for more differentiated cells in squamous cell carcinomas (1, 2).
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> DE-K10 (1). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Mouse IgG concentration:</u> See label on vial.
Immunogen	Cytoskeletal preparation extracted from human ectocervical epithelium (1).
Specificity	In Western blotting of cytoskeletal preparations from human epidermis, the antibody labels a single 56.5 kDa band corresponding to CK 10 (1). In two-dimensional immunoblotting of cytoskeletal proteins from human skin, the antibody labels a single dot corresponding to CK 10 (1).
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 not required, but optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, High pH, code No. S 3308, Target Retrieval Solution, code No. S 1700, 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0 or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. Pre-treatment of tissues with proteinase K was found destructive of the epitope. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunocytochemical 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 No. S 0809. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimen. <u>Frozen sections and cell preparations:</u> The antibody can be used for labelling acetone-fixed, frozen sections (1).
Staining procedure	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 10, code No. M 7002, may be used at a dilution range of 1:50-1:100 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human epidermis and using 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 No. X 0931, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody. <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 Dako 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.
Product-specific limitations	The antibody labels all the cells in the sebaceous glands in frozen sections, but only some cells in the basal layer of the acini on formalin-fixed, paraffin-embedded sections (1).
Performance characteristics	Cells labelled by the antibody display a cytoplasmic staining pattern (1). <u>Normal tissues:</u> The antibody labels all suprabasal layers of the epidermis, thymic Hassall's bodies and a variable amount of cells in some non-cornifying stratified epithelia including vagina, ectocervix and tongue (1). Some cells are also labelled in hair follicles, sebaceous glands, and in the inner layer of the large secretory ducts of sweat glands (1). All simple and glandular epithelia and transitional epithelium of urinary bladder and urethra are not labelled by the antibody (1). <u>Abnormal tissues:</u> The antibody labelled 21/26 (81%) squamous cell carcinomas of the vulva, mostly in more differentiated parts (1). Various adenocarcinomas were not labelled by the antibody (1). Among 268 cervical biopsies, including 55 normal, 20 low grade squamous intraepithelial lesions (LG-SIL), 8 high grade squamous intraepithelial lesions (HG-SIL) and 29 invasive carcinomas, the median percentage of immunostaining for CK 10 was 43% in normal

FRANÇAIS

Intérêt

Pour diagnostic in vitro.

Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 10, Clone DE-K10, est destiné pour un usage en immunocytochimie. L'anticorps marque toutes les cellules suprabasales dans l'épiderme qui est un moyen utile pour l'identification de carcinomes supplémentaires différenciés de la cellule squameuse (1, 2). L'identification différentielle s'appuie sur les résultats obtenus à l'aide d'un panel d'anticorps. L'interprétation des résultats doit être entreprise dans le contexte de l'histoire clinique du patient et des autres examens diagnostiques.

Introduction

Les cytokeratines (CK) font partie des filaments intermédiaires, qui sont à la base du cytosquelette de presque toutes les cellules eucaryotes. Au contraire des autres filaments intermédiaires, les CK sont constituées d'une famille multigénique hautement complexe de polypeptides dont les masses moléculaires varient de 40 à 68 kDa. Les CK sont, en général, considérées comme faisant partie des marqueurs les plus fondamentaux de la différenciation épithéliale, et à ce jour, 20 polypeptides CK ont été identifiés dans divers épithéliums humains (3). Les CK peuvent être divisées en deux sous-familles de type A acide (classe I) et de type B neutre-basique (classe II). CK 10 est une cytokératine du type acide I de taille moyenne, à masse moléculaire de 56.5 kDa, exprimée simultanément dans toutes les cellules suprabasales avec CK 1 mais est absente dans les cellules basales. Au total, CK 1 et CK 10 représentent certains des premiers marqueurs de différenciation épidermique (1, 4). CK 10 a été impliquée comme marqueur pour la plupart des cellules différencierées des carcinomes de la cellule squameuse (1, 2).

Réactif fourni

L'anticorps de souris monoclonale fourni à l'état liquide comme culture cellulaire surnageante dialisée contre 0,05 mol/L Tris/HCl, pH 7,2, et contenant 15 mmol/L NaN₃.

Clone: DE-K10 (1). Isotype: IgG1, kappa.

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

Immunogène

Préparation cytosquelettique extraite de l'épithélium ectocervical humain (1).

Spécificité

En immunobuvardage de Western des préparations cytosquelettiques de l'épiderme humain, l'anticorps marque une bande simple de 56.5 kDa correspondante à CK 10 (1).

En immunobuvardage dimensionnel double des protéines cytosquelettiques de la peau humaine, l'anticorps marque un seul point correspondant à CK 10 (1).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. 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.
3. Comme pour tout dérivé biologique dangereux à manipuler, une précision s'impose.

Stockage

Stocker entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption sur le flacon. Dans le cas où les réactifs sont conservés sous d'autres conditions que celles spécifiées, les conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles doivent être opérés simultanément avec les échantillons du patient. En cas de résultats imprévus qui ne peuvent pas être expliqués par des changements de procédures de laboratoire et qu'un problème avec le produit est suspecté, contactez nos Services Techniques.

Préparation de l'échantillon

Coupe 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 induite par la chaleur n'est pas requis, mais des résultats optimaux sont obtenus avec Dako Target Retrieval Solution, pH élevé, code S 3308, Dako Target Retrieval Solution, code S1700, 10 mmol/l tampon citrate, pH 6,0 ou 10 mmol/L tampon Tris, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0. Le prétraitement des tissus à la Protéinase K a entraîné la destruction de l'épitope. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure d'immunomarquage immunocytochimique suivante. A moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif ait été établie dans la procédure d'immunomarquage, 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.

Coupe congelée et préparations cellulaires: L'anticorps peut être utilisé pour marquer les coupes congelées fixées à l'acétone. (1).

Procédure d'immunomarquage

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 10, code M 7002, peut être dilué entre 1:50 et 1:100 pour une application sur des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol de l'épiderme humain pendant 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 déterminées par chaque laboratoire particulier. Le contrôle négatif requis est Dako Mouse IgG1, code X 0931, dilué à la même concentration de l'IgG de souris que celle de l'anticorps primaire.

Révélation: DAKO LSAB™+/HRP kit, code K 0679, et DAKO EnVision™+/HRP kits, codes K 4004 et K 4006, sont requis. Pour les coupes en congélation et préparations cellulaires, Dako APAAP kit, code K 0670, est une alternative valable si le marquage endogène peroxydasicque est à craindre. Suivre la procédure inclue avec le kit de révélation choisi.

Limitations spécifiques du produit

L'anticorps marque toutes les cellules des glandes sébacées dans les coupes congelées, mais seulement certaines cellules dans la couche basale de l'acini sur les coupes incluses en paraffine, fixées au formol (1).

Performances

Les cellules marquées par l'anticorps révèlent un modèle d'immunomarquage cytoplasmique (1).

Tissus normaux: L'anticorps marque toutes les couches suprabasales de l'épiderme, les corps thymiques de Hassal et un nombre variable de cellules dans certains épithéliums stratifiés non-kératinisés y compris dans le vagin, l'ectocervix et la langue (1). Quelques cellules sont aussi marquées dans les follicules pileux, les glandes sébacées et dans la couche interne des canaux sécrétaires larges des glandes sudoripares (1). Tout épithélium simple et glandulaire et épithélium transitionnel de la vessie urinaire et l'urètre ne sont pas marqués par l'anticorps (1).

Tissus anormaux: L'anticorps marquait 21/26 (81%) de carcinomes de la cellule squameuse de la vulve, la plupart dans les parties différenciées (1). Des adénocarcinomes variés n'étaient pas marqués par l'anticorps (1).

Parmi 268 cas de biopsies cervicales, y compris 55 normales, 20 cas de lésions intra-épithéliales squameux à degré faible (LG-SIL), 8 cas de lésions intra-épithéliales squameux à haut degré (HG-SIL) et 29 cas de carcinomes invasifs, le pourcentage moyen de l'immunomarquage pour CK 10 était de 43% dans le tissu normal, 41% dans LG-SIL, 17% dans HG-SIL et 1% dans les carcinomes invasifs. En utilisant l'anticorps en association avec le marquage de CK 17 (Dako Mouse Monoclonal Anti-Cytokeratin 17, code M 7046) une distinction des échantillons cancéreux était facilitée (2).

Zweckbestimmung

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 10, Clone DE-K10, ist für den immunzytochemischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper markiert alle suprabasalen Zellen der Epidermis und ist nützliches zur Identifizierung höher differenzierter Plattenepithelkarzinome (1, 2). 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.

Einleitung

Die Cytokeratine (CKs) gehören zu den Intermediärfilamenten, die in fast allen eukaryotischen Zellen ein Zellskelett bilden. Im Gegensatz zu anderen intermediären Filamenten bestehen die Cytokeratine aus einer hoch komplexen Multigenfamilie von Polypeptiden mit Molekülmassen von 40 bis 68 kDa. Generell wird die Ansicht vertreten, dass die Cytokeratine zu den grundlegendsten Markern der Epitheldifferenzierung gehören und bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt wurden in verschiedenen Epithelgeweben des Menschen 20 deutlich voneinander unterscheidene CK-Polypeptide nachgewiesen (3). Cytokeratine können in eine azidische Unterfamilie vom Typ A (Klasse I) und eine neutral-basische Unterfamilie vom Typ B (Klasse II) unterteilt werden. CK 10 ist ein saures Cytokeratin mittlerer Größe vom Typ I, mit einer relativen Molekülmasse von 56,5 kDa und wird in allen suprabasalen Zellen zusammen mit CK 1 exprimiert, fehlt aber auf den Basalzellen. Beide Cytokeratine, CK 1 und CK 10, gehören zu den primären Markern der epidermalen Differenzierung (1, 4). CK 10 ist als Marker für das Vorliegen höher differenzierter Zellen in Plattenepithelkarzinomen impliziert worden (1, 2).

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 NaN₃.

Klon: DE-K10 (1). Istotyp: IgG1, Kappa.

Maus-IgG-Konzentration: Siehe Produktetikett.

Immunogen

Aus humanem Ektozervix-Epithel estriertes Zellgerüstpräparat (1).

Spezifität

In der Westernblot-Analyse von Zellgerüstpräparaten aus humarer Epidermis markiert der Antikörper eine einzige, CK 10 entsprechende Bande von 56,5 kDa (1).

Im zweidimensionalen Immunoblotting der Zellgerüstproteine aus humarer Haut markiert der Antikörper einen einzigen Punkt, der CK 10 entspricht (1).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Für geschultes Fachpersonal.

2. Dieses Produkt enthält Natrium-Azid (NaN₃), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natrium-Azid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metall-Azid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.

3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen 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. 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 paraffineingegebetteten, formalinfixierten histologischen Schnitten genutzt werden. Eine Vorbehandlung der Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung ist nicht erforderlich. Optimale Ergebnisse werden mit Dako Target Retrieval Solution, pH 9,9, Code-Nr. S 3308, Dako Target Retrieval Solution, pH 6,1, Code-Nr. S 1700 oder mit 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0, erhalten. Dagegen wurde festgestellt, dass die Gewebevorbereitung mit Proteinase K zur Zerstörung des Epitops führt. Während der Gewebevorbehandlung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen Färbeprocedure dürfen die Gewebschnitte nicht austrocknen. 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. S 0809, vorzunehmen. Es sollten die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden.

Gefrierschnitte und zytologische Präparate: Der Antikörper kann für die Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten verwendet werden (1).

Färbe procedure

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human Cytokeratin 10, Code-Nr. M 7002, kann bei einem Verdünnungsbereich von 1:50-1:100 eingesetzt werden, wenn es für formalinfixierte, paraffineingegebettete Schnitte der menschlichen Epidermis genutzt wird und wenn 30 Minuten lang die 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. X 0931, das auf dieselbe murine IgG-Konzentration wie der primäre Antikörper verdünnt wurde.

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 Dako 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.

Produktspezifische Beschränkungen

Der Antikörper markiert alle Zellen der Talgdrüsen in Gefrierschnitten, aber nur einen kleinen Teil der Basalschicht der Acini bei formalin-fixierten, paraffineingegebetteten Schnitten (1).

Leistungseigenschaften

Durch den Antikörper markierte Zellen zeigen ein zytoplasmatisches Färbemuster (1).

Normalgewebe: Der Antikörper markiert alle suprabasalen Schichten der Epidermis, Hassal-Körperchen im Thymus und eine unterschiedliche Anzahl der Zellen in einigen nicht verhornten geschichtetem Epithelen, einschließlich Vagina, Ektozervix und Zunge (1). Einige Zellen in Haarfollikeln, Talgdrüsen und in der inneren Schicht großer sekretorischen Gänge der Schweißdrüsen werden ebenfalls markiert (1). Einfache und glanduläre Epithelzellen sowie das Übergangsepithel der Harnblase und der Harnröhre werden durch den Antikörper nicht markiert (1).

Anomales Gewebe: Der Antikörper markierte 21/26 (81%) Plattenepithelkarzinome der Vulva, meistens in den höher differenzierten Anteilen (1). Verschiedene Adenokarzinome wurden durch den Antikörper nicht markiert (1).

Von 268 Biopsien der Zervix, worunter 55 normal, 20 LG-SIL (in-situ-Läsion niedrigen Grades), 8 HG-SIL (hochgradige in-situ-Läsion) und 29 invasive Karzinome waren, war der mittlere Prozentsatz der CK 10-Färbung 43% für normales Gewebe, 41% für LG-SIL, 17% für HG-SIL und 1% für inasives Karzinom. Beim Einsatz des Antikörpers zusammen mit CK 17 (Dako Mouse Monoclonal Anti-Cytokeratin 17), Code-Nr. 7046, konnte die Unterscheidung der Karzinomproben erleichtert werden (2).

References/ Références/ Literatur

1. Ivanyi D, Asink A, Groeneveld E, Hageman PC, Mooi WJ, Heintz APM. New monoclonal antibodies recognizing epidermal differentiation-associated keratins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. Keratin 10 expression in carcinoma of the vulva. J Pathol 1989;159:7-12.
2. Maddox P, Sasieni iP, Szarewski A, Anderson M, Hanby A. Differential expression of keratins 10, 17, and 19 in normal cervical epithelium, cervical intraepithelial neoplasia, and cervical carcinoma. J Clin Pathol 1999;52:41-6.
3. Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors. In: Hermann, Harris, editors. Subcellular Biochemistry. Volume 31, New York: Plenum Press;
4. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R. The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. Cell 1982;31:11-24.
5. Moll R. Cytokeratins as markers of differentiation in the diagnosis of epithelial tumors. Subcellular Biochem; Intermediate Filaments. Hermann, Harris, editors. Plenum Press, New York; 1998; Volume 31. p. 205-60.

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		Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung		
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Use by Utiliser jusque Verwendbar bis		