

## Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase

Klon BBS/NC/VI-H14

Kód M 0873

Vydáno 20.01.03.

### Použití

In vitro diagnostikum.

Monoklonální myší protilátka proti lidské enoláze specifické pro neurony (Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase - NSE), klon BBS/NC/VI-H14, je určena k použití v imunocytochemii. Tato protilátka značí normální i nádorové buňky neuronového i neuroendokrinního původu (1) a ačkoli NSE není výlučně neuronovým markerem, může být použita pro identifikaci periferních nervů, nervových a neuroendokrinních tumorů, jako je například neuroblastom, retinoblastom, desmoplastický maligní melanom a malobuněčný karcinom plic (2, 3). Výsledky z panelu protilátek napomáhají v diferenciální identifikaci. Interpretaci musí provádět kvalifikovaný patolog v souvislosti s anamnézou pacienta a jinými diagnostickými vyšetřeními.

### Synonyma pro antigen

$\gamma$ -enoláza a protein 14-3-2 (4)

### Úvod

Enolázy (2-fofo-D-glycerát hydroláza) jsou glykolytické homodimerické nebo heterodimerické izoenzymy, které katalyzují vzájemnou konverzi 2-fosfoglycerátu a fosfoenolpyruvátu. Tři podjednotky,  $\alpha$  (46 kDa),  $\beta$  (44 kDa) a  $\gamma$  (46 kDa), představují stavební kostky molekul enolázy. Bylo identifikováno pět forem ( $\alpha\alpha$ ,  $\beta\beta$ ,  $\gamma\gamma$ ,  $\alpha\beta$  a  $\alpha\gamma$ ) enzymu (5). Enolázy se dělí do tří hlavních skupin podle místa výskytu: enoláza jiného než neuronálního typu (NNE neboli  $\alpha$ ), enoláza specifická pro svaly (MSE neboli  $\beta$ ) a enoláza specifická pro neurony (NSE neboli  $\gamma$ ) (3).

### Dodaná činidla

Dodaná monoklonální myší protilátka je poskytována v tekuté formě jako supernatant z buněčné kultury dialyzovaný proti 0,05 mol/L Tris HCl, pH 7,2, a obsahuje 15 mmol/L NaN<sub>3</sub>.

Klon: BBS/NC/VI-H14 (1). Izotyp: IgG1, kappa.

Koncentrace myšního IgG: viz štítek na lahvičce.

### Imunogen

$\gamma\gamma$ -enoláza z lidského mozku, purifikovaná metodou disociace a reasociace na chromatofokusační koloně (1).

### Specifičnost

Při Western blotingu redukováná a pomocí SDS denaturovaná purifikovaná lidské  $\gamma\gamma$ -enolázy,  $\alpha\alpha$ -enolázy a extraktu z lidských svalů, který obsahuje  $\beta\beta$ -enolázu, označí protilátka pouze podjednotku  $\gamma$ -enolázy (1).

Jak bylo prokázáno pomocí imunocytochemických metod, protilátka zkříženě reaguje s proteinem ekvivalentním NSE u morčat (1).

### Upozornění

1. Pro profesionální uživatele.

2. Tento výrobek obsahuje azid sodný (NaN<sub>3</sub>), chemikálii, která je v čistém stavu vysoce toxická. V koncentracích, v nichž se azid sodný nachází v produktu, není klasifikován jako nebezpečný, může však reagovat s olověnými a měděnými armaturami a vytvářet vysoce výbušné koncentrace kovových azidů. Při likvidaci splachujte velkým množstvím vody, abyste zabránili usazeninám kovových azidů v potrubí.

3. Tento produkt obsahuje materiál živočišného původu, proto by se s ním mělo zacházet jako s potenciálně infekčním.

### Uchovávání

Uchovávejte při teplotě 2–8°C. Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti označené na lahvičce. Jsou-li činidla uchovávána v jiných než uvedených podmínkách, musí je uživatel prověřit. Nestabilita výrobku není signalizována žádnými zřetelnými známkami. Testujte proto současně se vzorky pacientů i pozitivní a negativní kontroly. Pokud dojde k nečekanému zbarvení, které nelze vysvětlit odchylkami v laboratorních postupech, a máte-li podezření na problém s protilátkou, kontaktujte naši Technickou službu.

### Příprava vzorků

Parafínové řezy: Protilátku lze použít ke značení tkáňových řezů zalitých do parafínu a fixovaných ve formalínu. Pro postup se doporučuje předběžná příprava tkání s tepelným odmaskováním epitopů. Optimálních výsledků lze dosáhnout pomocí odmaskovacího roztoku Dako Target Retrieval Solution, kód S 1700, Dako Target Retrieval Solution, High pH, kód S 3308, citrátového pufru 10 mmol/L, pH 6,0, nebo pufru Tris 10 mmol/L, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0. Předběžná příprava tkáně proteinázou K poškozuje epitopy. Tkáňové řezy by během přípravy a následujícího imunocytochemického barvení neměly zaschnout.

### Postup barvení

Ředění: Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase (NSE), kód M 0873, lze použít v rozsahu ředění 1:100-1:200 při aplikaci na řezy tkání lidského tlustého střeva fixované formalínem a zalité do parafínu, a to po tepelném odmaskování epitopů po dobu 20 minut v odmaskovacím roztoku Dako Target Retrieval Solution, High pH, kód S 1700, a 30 minutách inkubace s primární protilátkou při pokojové teplotě. Optimální podmínky se mohou lišit v závislosti na vzorku a metodě preparace, a každá laboratoř by si je měla stanovit individuálně. Doporučenou negativní kontrolou je protilátka Dako Mouse IgG1, kód X 0931, naředěná na stejnou koncentraci myšního IgG, jakou má primární protilátka. Pokud jste u skutečně prováděného barvicího postupu nestanovili stabilitu naředěné protilátky a negativní kontroly, doporučujeme tuto činidla naředit bezprostředně před použitím nebo ředit je pomocí ředícího roztoku Dako Antibody Diluent, kód S 0809. Současně se vzorky pacientů testujte i pozitivní a negativní kontrolou.

**Vizualizace:** Doporučuje se kit DAKO LSAB™+/ HRP, kód K 0679, a kity DAKO EnVision™+/HRP, kódy K 4004 a K 4006. Postupujte podle postupu přibaleného k vybranému vizualizačnímu kitu.

**Automatizace:** Protilátka je vhodná k imunocytochemickému barvení pomocí automatizovaných systémů jako např. Dako Autostainer.

#### Funkční charakteristiky

Buňky značené protilátkou mají cytoplazmatický obrazec barvení. V neuronech se barví cytoplazma i výběžky.








**Normální tkáně:** Protilátka značí neurony v buňkách lidské mozkové kůry a jádrech mozkového kmene (1). Navíc protilátka značí gangliové buňky v lidském gastrointestinálním traktu a myelinizovaná a nemyelinizovaná nervová vlákna (1). V normálních dospělých varlatech protilátka slabě barví spermatogonie (3).

**Abnormální tkáně:** Protilátka barví nádory vycházející z neuronů nebo obsahující neurony, gangliové buňky a periferní nervy. Mohou se však specificky barvit i nádory, které nejsou odvozeny od neuronů, jako například meningeomy, meduloblastomy, astrocytomy, glioblastomy, oligoastrocytomy, oligodendroglomy, adenomy hypofýzy, schwannomy, ependymomy, meningosarkomy, gliosarkomy a metastázy různého původu – tedy metastázy melanomu, malobuněčného karcinomu plic a nediferencované karcinomy (1, 4). Navíc protilátka značí nádory ze zárodečných buněk, tedy testikulární karcinomy in situ, seminomy a embryonální karcinomy (3).

#### Literatura

1. Soler Federspiel BS, Cras P, Gheuens J, Andries D, Lowenthal A. Human  $\gamma\gamma$ -enolase: two-site immunoradiometric assay with a single monoclonal antibody. J Neurochem 1987;48:22-8.
2. Anstey A, Cerio R, Ramnarain N, Orchard G, Smith N, Jones EW. Desmoplastic malignant melanoma. An immunocytochemical study of 25 cases. Am J Dermatopathol 1994;16:14-22.
3. Kang J-L, Meyts ER, Skakkebak NE. Immunoreactive neuron-specific enolase (NSE) is expressed in testicular carcinoma-in-situ. J Pathol 1996;178:161-5.
4. Cras P, Martin JJ, Gheuens J.  $\gamma$ -enolase and glial fibrillary acidic protein in nervous system tumors. An immunohistochemical study using specific monoclonal antibodies. Acta Neuropathol 1988;75:377-84.
5. Shimizu A, Suzuki F, Kato K. Characterization of  $\alpha\alpha$ ,  $\beta\beta$ ,  $\gamma\gamma$  and  $\alpha\gamma$  human enolase isoenzymes, and preparation of hybrid enolases ( $\alpha\gamma$ ,  $\beta\gamma$  and  $\alpha\beta$ ) from homodimeric forms. Biochim Biophys Acta 1983;748:278-84.

#### Vysvětlení symbolů

 REF	Katalogové číslo	 2°C - 8°C	Teplota skladování		Výrobce
 IVD	In Vitro diagnostický zdravotnický prostředek	 LOT	Číslo šarže		
 i	Viz návod k použití		Použitelné do		