

Monoclonal Mouse
Anti-Human Neuron-Specific Enolase
Clone BBS/NC/VI-H14
Code No./ Code/ Code-Nr. M 0873
Edition/ Ausgabe 20.01.03



ENGLISH

Intended use	For in vitro diagnostic use.
	Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase (NSE), Clone BBS/NC/VI-H14, is intended for use in immunocytochemistry. The antibody labels both normal and neoplastic cells of neuronal and neuroendocrine origin (1), and although NSE is not an exclusive neuronal marker, it may be used for the identification of peripheral nerves, neural and neuroendocrine tumours, such as neuroblastomas, retinoblastomas, desmoplastic malignant melanoma and small-cell lung cancer (2, 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.
Synonyms for antigen	γ -enolase and 14-3-2 protein (4)
Introduction	Enolases (2-phospho-D-glycerate hydrolase) are glycolytic homo- or heterodimeric isoenzymes, which catalyse the interconversion of 2-phosphoglycerate and phosphoenolpyruvate. Three subunits, α (46 kDa), β (44 kDa) and γ (46 kDa), constitute the building blocks of the enolase molecules, and five forms ($\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$, $\alpha\beta$ and $\alpha\gamma$) of the enzyme have been identified (5). The enolases are divided in three main groups according to their localization: non-neuronal enolase (NNE or α), muscle-specific enolase (MSE or β), and neuron-specific enolase (NSE or γ) (3).
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 Na ₃ N.
	<u>Clone:</u> BBS/NC/VI-H14 (1). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa.
	<u>Mouse IgG concentration:</u> see label on vial.
Immunogen	γ -enolase purified from human brain by a dissociation-reassociation method in a chromatofocusing column (1).
Specificity	In Western blotting of reduced, SDS-denatured purified human γ -enolase, $\alpha\alpha$ -enolase, and extract of human muscle containing $\beta\beta$ -enolase, the antibody labels solely the γ -enolase subunit (1). As demonstrated by immunocytochemistry, the antibody cross-reacts with the NSE-equivalent protein in guinea pig (1).
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> For professional users. This product contains sodium azide (Na₃N), 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. This product contains material of animal origin, therefore the product should be handled as potentially infectious.
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	Paraffin sections: The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of tissues with heat-induced epitope retrieval is recommended. Optimal results are obtained with DakoCytomation Target Retrieval Solution, code No. S 1700, DakoCytomation Target Retrieval Solution, High pH, code No. S 3308, 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.
Staining procedure	Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase (NSE), code No. M 0873, may be used at a dilution range of 1:100-1:200 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human colon 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.
	Visualization: DAKO LSAB™+/HRP kit, code No. K 0679, and DAKO EnVision™+/HRP kits, code Nos. K 4004 and K 4006, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.
	Automation: The antibody is well-suited for immunocytochemical staining using automated platforms, such as the DakoCytomation Autostainer.
Performance characteristics	Cells labelled by the antibody display a cytoplasmic staining pattern. In neurons, labelling occurs in both cytoplasm and processes.

(102353-001)

M 0873/EFG/HEW/20.01.03 p. 1/4

Normal tissues: The antibody labels neurons in human cerebral cortex and brainstem nuclei (1). Additionally, the antibody labels ganglion cells in the human gastrointestinal tract and myelinated and unmyelinated nerve fibers (1). In normal adult testis, the antibody displays weak immunostaining of the spermatogonia (3).

Abnormal tissues: The antibody labels tumours derived from or containing neurons, ganglion cells and peripheral nerves. However, also non-neuronal derived tumours, as meningiomas, medulloblastomas, astrocytomas, glioblastomas, oligoastrocytomas, oligodendroglomas, pituitary adenomas, schwannomas, ependymomas, meningosarcomas, gliosarcomas and metastases of different origin – i.e. melanomas, small-cell carcinomas of lung, and undifferentiated carcinomas may be labelled specifically (1, 4). In addition, the antibody labels germ cell tumours, i.e. testicular carcinomas-in-situ, seminomas and embryonal carcinomas (3).

FRANÇAIS

Intérêt	Pour diagnostic <i>in vitro</i> .
	Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase (NSE), Clone BBS/NC/VI-H14, est destiné pour un usage en immunocytochimie. L'anticorps marque les cellules normales et les cellules néoplasiques d'origine neuronale ou neuro-endocrine (1), et, bien que le NSE ne soit pas un marqueur neuronal exclusif, il peut être utilisé pour l'identification des tumeurs des nerfs périphériques, des tumeurs neuronales et neuro-endocrines, comme les neuroblastomes, les rétinoblastomes, les mélanomes malins desmoplastiques et les cancers du poumon à petites cellules (2, 3). 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 par un professionnel certifié.
Synonymes de l'antigène	γ -énolase et protéine 14-3-2 (4).
Introduction	Les énolases (2-phospho-D-glycérate hydrolases) sont des isoenzymes glycolytiques homo- ou hétérodimériques, qui catalysent l'interconversion du 2-phosphoglycérate et du phosphoenolpyruvate. Les molécules d'énoïlase sont constitués par les 3 sous-unités α (46 kDa), β (44 kDa) et γ (46 kDa) ; cinq formes de l'enzyme ($\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$, $\alpha\beta$ et $\alpha\gamma$) ont été identifiées (5). Les énolases sont divisées en trois groupes principaux en fonction de leur localisation : les énolases non-neuronales (NNE ou α), les énolases musculaires spécifiques (MSE ou β), et les énolases neuronales spécifiques (NSE ou γ) (3).
Réactif fourni	L'anticorps de souris monoclonale fourni à l'état liquide comme culture cellulaire surnageante dialysée contre 0,05 mol/L Tris/HCl, pH 7,2, et contenant 15 mmol/L Na ₃ N.
	<u>Clone:</u> BBS/NC/VI-H14 (1). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa.
	<u>Concentration IgG de Souris:</u> Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.
Immunogène	γ -énolase de cerveau humain, purifiée par l'intermédiaire d'une méthode de dissociation-réassociation sur une colonne de chromatofocusing (1).
Spécificité	En transfert de type Western, l'anticorps marque uniquement la sous-unité γ -énolase de la γ -énolase et de la $\alpha\alpha$ -énolase humaines, purifiées, réduites et dénaturées par le SDS, et d'extrait de muscle humain contenant de la $\beta\beta$ -énolase.
	Comme l'a démontré l'immunocytochimie, l'anticorps montre des réactions croisées aux protéines équivalentes à la NSE chez le cochon d'inde (1).
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none"> Pour utilisateurs professionnels. Ce produit contient de l'azide de sodium (Na₃N), un produit chimique hautement毒ique 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. 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 mentionnée 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	Coupes en paraffine: L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Le prétraitement des tissus par desquamage des épitopes par la chaleur est requis. Un résultat optimal est obtenu en utilisant DakoCytomation Target Retrieval Solution, code S1700, ou DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH élevé, code S3308, ou 10 mmol/l de solution 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.
Procédure d'immunomarquage	Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase (NSE), code M 0873, peut être dilué entre 1:100 et 1:200 pour application sur des coupes incluses en paraffine, fixées au formol de colon humain pendant 20 minutes de démasquation de l'épitope induite par la chaleur dans DakoCytomation Target Retrieval Solution, code S 1700 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 IDakoCytomation Mouse IgG1, code X 0931, dilué à la même concentration de l'IgG de souris que celle de l'anticorps primaire. A moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif ait été établie dans la procédure d'immunomarquage réelle, il est recommandé de diluer ces réactifs juste avant leur

(102353-001)

emploi, ou de les diluer dans DakoCytomation Antibody Diluent, code S 0809. Les contrôles positifs et négatifs doivent être opérés simultanément avec l'échantillon du patient.

Révélation: DAKO LSAB™+/HRP kit, code K 0679, et DAKO EnVision™+/HRP kits, codes K 4004 et K 4006, sont requis. Suivre la procédure inclue avec le kit de révélation choisi.

Automatisation: L'anticorps est bien adapté au marquage immunocytochimique sur des plates-formes automatisées comme le DakoCytomation Autostainer.

Performances

Les cellules marquées par l'anticorps révèlent un modèle de marquage cytoplasmique. Dans les neurones, le marquage se produit au niveau du cytoplasme et des processus.

Tissus normaux: L'anticorps marque les neurones du cortex cérébral et les noyaux du tronc cérébral humains (1). De plus, l'anticorps marque les cellules ganglionnaires du tractus gastro-intestinal humain et les fibres nerveuses myélinisées et amyélinisées (1). Dans les testicules adultes normaux, l'anticorps montre un faible immunomarquage de la spermatogonie (3).

Tissus anormaux: L'anticorps marque les tumeurs dérivées ou contenant des neurones, des cellules ganglionnaires et des nerfs périphériques. Cependant, certaines tumeurs d'origine non-neuronale comme les méningiomes, les médulloblastomes, les astrocytomes, les gliosblastomes, les oligo-astrocytomes, les oligodendrogiomes, les adénomes hypophysaires, les schwannomes, les épendymomes, les méningosarcomes, les gliosarcomes et les métastases de diverses origines, comme les mélanomes, le cancer du poumon à petites cellules et les carcinomes non-différenciés, par exemple, peuvent être spécifiquement marquées (1, 4). De plus, l'anticorps marque, par exemple, les tumeurs des cellules germinales, comme les carcinomes testiculaires *in situ*, les séminomes et les carcinomes embryonnaires (3).

DEUTSCH

Zweckbestimmung

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase (NSE), Clone BBS/NC/VI-H14, ist für den immunzytochemischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper markiert sowohl gesunde als auch neoplastische Zellen neuronalen und neuroendokrinen Ursprungs (1). Auch wenn NSE kein exklusiver neuronaler Marker ist, kann er für die Identifizierung von peripheren Nerven, neuronalen und neuroendokrinen Tumoren, wie z. B. Neuroblastomen, Retinoblastomen, desmoplastischen malignen Melanomen und kleinzelligen Bronchialkarzinomen genutzt werden (2, 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

γ -enolase und 14-3-2-Protein (4).

Einleitung

Enolasen (2-Phospho-D-glycerinsäure-Hydrolase) sind glykolytische homo- oder heterodimere Isoenzyme, die die wechselseitige Umsetzung von 2-Phosphoglycerat und Phosphoenolpyruvat katalysieren. Drei Untereinheiten, α (46 kDa), β (44 kDa) und γ (46 kDa), repräsentieren die Bausteine der Enolase-Moleküle und es wurden fünf Formen ($\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$, $\alpha\beta$ und $\alpha\gamma$) des Enzyms identifiziert (5). In Abhängigkeit von ihrer Lokalisation werden die Enolasen in drei Hauptgruppen unterteilt: nicht neuronale Enolase (NNE oder α), Muskel-spezifische Enolase (MSE oder β) und Neuron-spezifische Enolase (NSE oder γ) (3).

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 Na₃N.

Klon: BBS/NC/VI-H14 (1). **Istotyp:** IgG1, Kappa.

Maus-IgG-Konzentration: Siehe Produktetikett.

Immunogen

γ -Enolase, anhand eines Diassoziations-Reassoziations-Verfahrens in einer Chromatofokussierungs-Säule aus menschlichem Hirngewebe gereinigt (1).

Spezifität

Beim Western-Blott reduzierter, SDS-denaturierter, gereinigter humaner γ -Enolase, $\alpha\alpha$ -Enolase und des Extraks von $\beta\beta$ -Enolase enthaltendem menschlichem Muskelgewebe markiert der Antikörper ausschließlich die γ -Enolase-Untereinheit (1).

Es wurde der immunzytochemische Nachweis erbracht, dass der Antikörper beim Meerschweinchen mit dem NSE-äquivalenten Protein eine Kreuzreaktion eingeht (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 paraffineingebetteten, formalinfixierten histologischen Schnitten genutzt werden. Es wird eine Vorbehandlung der Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung empfohlen. Optimale Resultate werden erzielt mit DakoCytomation Target Retrieval Solution, Code-Nr. S 1700, DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9,9, Code-Nr. S 3308, 10 mmol/l Citratpuffer, pH 6,0, oder 10 mmol/l Trisbuffer, 1 mmol/l EDTA, pH 9,0. Dagegen wurde festgestellt, dass die Gewebevorbehandlung mit Proteinase K zur Zerstörung des Epitops führt. Während der Gewebevorbehandlung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen FärbePROCEDUR dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

FärbePROCEDUR

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human Neuron-Specific Enolase (NSE), Code-Nr. M 0873, kann bei einem Verdünnungsbereich von 1:100-1:200 eingesetzt werden, wenn es für formalinfixierte paraffineingebettete Schnitte des menschlichen Colns 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. Es sollten die Positiv- und Negativkontrollen 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. Es ist dem Verfahren zu folgen, das in den Anleitungen des genutzten Kits für die Visualisierung erläutert wird.

Automatisierung: Der Antikörper ist gut für das immunzytochemische Färben unter Nutzung automatisierter Plattformen wie beispielsweise des „Autostainer“ von DakoCytomation geeignet.

Leistungseigenschaften

Durch den Antikörper markierte Zellen zeigen ein zytoplasmatisches Färbemuster. Bei Neuronen erfolgt die Markierung sowohl im Zytoplasma als auch in den Fortsätzen.

Normalgewebe: Der Antikörper markiert Neuronen in der Großhirnrinde und den Hirnstammkernen (1). Zudem markiert der Antikörper Ganglienzellen im menschlichen Gastrointestinaltrakt sowie myelinisierte und nicht myelinisierte Nervenfasern (1). In den befundlosen Testes des Erwachsenen zeigt der Antikörper schwache Immunfärbung der Spermatozonen (3).

Anomales Gewebe: Der Antikörper markiert Neoplasmen, deren Ursprung auf Neuronen, Ganglienzellen und periphere Nerven zurückgeht oder die diese Strukturen enthalten. Eine spezifische Markierung kann jedoch auftreten bei: Neoplasmen nicht neuronalen Ursprungs, wie z. B. Meningiomen, Medulloblastomen, Astrozytomen, Glioblastomen, Oligoastrozytomen, Oligodendrogiomen, Hypophysenadenomen, Schwannomen (Neurinomen), Ependymomen, Meningosarkomen, Gliosarkomen und Metastasen unterschiedlichen Ursprungs – d. h. Melanomen, kleinzelligen Bronchialkarzinomen und undifferenzierten Karzinomen (1, 4). Zudem markiert der Antikörper Keimzelltumore, d. h. testikuläre Karzinome *in-situ*, Seminome und embryonale Karzinome (3).

References/ Références/ Literatur

1. Soler Federspiel BS, Cras P, Gheuens J, Andries D, Lowenthal A. Human γ -enolase: two-site immuno-radiometric 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, Skakkebæk 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. γ -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.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	Temperature limitation 2 °C / 8 °C Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	Manufacturer Fabrant 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	