

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
E-cadherin
Clone NCH-38**

**English
Code M3612**

Intended use

For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human E-cadherin, Clone NCH-38 is intended for use in immunohistochemistry (IHC). This antibody is useful for the identification of E-cadherin-expressing cells in normal and neoplastic tissues.^{1-3,5-8,10,11} Results aid in the classification of ductal breast carcinoma. Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.

Synonyms

E-CD, uvomorulin, L-CAM, Arc-1, or cell-CAM 120/180¹⁻³

Summary and explanation

E-cadherin is a 120 kDa transmembrane cell adhesion molecule. The gene has been localized on chromosome 16q22.1. In its extracellular domain, E-cadherin is involved in cell-cell adhesion through calcium-regulated homophilic interactions, whereas in its intracellular domain, E-cadherin connects to the actin cytoskeleton via catenins. E-cadherin has a significant function in intercellular adhesion of epithelial cells, the establishment of epithelial polarization, glandular differentiation, and stratification. It is localized mainly in the adherens junctions and concentrates the urokinase plasminogen and the epidermal growth factor receptor to cell contact sites.^{5,6}

Refer to *Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure, Materials Required, Not Supplied, Storage, Specimen Preparation, Staining Procedure, Quality Control, Troubleshooting, Interpretation of Staining, General Limitations.

Reagent provided

Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as tissue culture supernatant in 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 and 0.015 mol/L sodium azide. This product contains stabilizing protein.

Clone: NCH-38⁴ Isotype: IgG1, kappa

Mouse IgG concentration: see label on vial.

The protein concentration between lots may vary without influencing the optimal dilution. The titer of each individual lot is compared and adjusted to a reference lot to ensure a consistent immunohistochemical staining performance from lot-to-lot.

Immunogen

E-cadherin (uvomorulin) and GST recombinant protein⁴

Specificity

Anti-E-cadherin, NCH-38 recognizes the 120 kDa mature form and 82 kDa fragment of E-cadherin in Western blots of A431 cells lysates.⁴

Materials required, but not supplied

Refer to *Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining* and/or the Detection System instructions. Suggested diluent for IHC procedures: Antibody Diluent (Code S0809)

The following negative control is recommended for IHC procedures: Mouse IgG1 (Code X0931)

Precautions

1. For in vitro diagnostic use.
2. For professional users.
3. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, NaN₃ 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.
4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
6. 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-E-cadherin, NCH-38 can be used on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. The deparaffinized tissue sections must be treated with heat prior to the IHC staining procedure. Target retrieval involves immersion of tissue sections in a pre-heated buffer solution and maintaining heat, either in a water bath (95–99 °C), a steamer (95–99 °C) or an autoclave (121 °C). For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Silanized Slides (Code S3003) is recommended. Target Retrieval Solution (Code S1700) or 10x Concentrate (Code S1699) is recommended using a 20-minute heating protocol.

Frozen Sections and Cell Smears

Anti-E-cadherin, NCH-38 can be used for labeling acetone-fixed frozen sections or fixed cell smears. Target or antigen retrieval is not required.^{3,8-10}

Staining procedure

These are guidelines only. Optimal conditions may vary depending on specimen type and preparation method, and should be validated individually by each laboratory. The performance of this antibody should be established by the user when utilized with other manual staining systems or automated platforms.

Dilution: M3612 may be used at a dilution range of 1:50 to 1:100 when performing IHC using the LSAB2, HRP, Liquid DAB detection system. Follow the procedure for the detection system selected.

Quality control: Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens.

Staining interpretation

The cellular staining pattern for anti-E-cadherin, NCH-38 is membranous and/or cytoplasmic.

Performance characteristics

Normal tissues: E-cadherin expression has been demonstrated by immunohistochemistry in (40/40) normal urothelium specimens (frozen and paraffin).⁸ Normal human mammary gland has been found to strongly express E-cadherin in the intercellular borders of the luminal cells of both the interlobular ducts and the intralobular terminal ducts and ductules but expression was much weaker in myoepithelial cells of ducts and ductules (frozen and paraffin).⁹ Squamous epithelial cells in esophagus were found to be strongly immunoreactive (15/15) on cell-cell boundaries, except in the most superficial keratinizing layer. Also, E-cadherin was immunolocalized in normal gastric mucosa at the cell-cell boundaries of the foveolar epithelia as well as in gastric crypts and deep gastric glands (frozen and paraffin).^{1,2} In normal endometrium, almost all the glands revealed strong E-cadherin expression (frozen).¹⁰ E-cadherin immunoreactivity has been localized in normal skin along the lateral and upper surfaces of basal keratinocytes at intercellular borders but was absent at the basal cell surface. In the suprabasal layers of skin, E-cadherin expression was localized uniformly around the periphery of the cells, however no expression was seen in the superficial corneal layer. The adnexal structures of skin also demonstrated E-cadherin immunoreactivity including membrane staining of the outer root sheath cells (the inner sheath cells were negative), acinar germinative cells in the sebaceous glands and sweat gland cells of skin. No E-cadherin expression was demonstrated in the dermis of normal skin (paraffin).⁵ E-cadherin was also strongly expressed in epithelial cells of normal prostate, especially in areas of cell-cell contact (frozen).³

Abnormal tissues: E-cadherin immunoreactivity has been demonstrated in a variety of abnormal cell types.^{1-3,5-8,9,10} Table 1 summarizes expression of E-cadherin in abnormal tissues.

Table 1. Abnormal Tissue Reactivity

<i>Tissue Type</i>	<i>Labeled and Unlabeled Tissue Element Staining and Staining Pattern</i>
Bladder: Primary transitional cell carcinoma of the bladder ^{a,b}	13/40 labeled, homogeneous (membranous) 13/40 labeled, heterogeneous 14/40 unlabeled High Grade (grade IIb and III): 10/24 labeled Low Grade (grade I and IIa): 16/16 labeled Superficial stage (Ta and Ti): 21/22 labeled Invasive stage (T2, T3 and T4): 5/18 labeled
Breast cancer: Node negative ^b (without chemotherapy or hormonal therapy)	136/168 labeled
Breast carcinoma: Ductal ^{a,b}	55/87 ^a strong labeling, majority of cells 29/87 ^a weaker labeling, heterogeneous 14/24 ^b strong labeling, majority of cells 10/24 ^b weaker labeling, heterogeneous
Breast carcinoma: Lobular ^{a,b}	3/21 ^a labeled focal—very sparse intercellular membrane—or weak cytoplasmic 3/14 ^b labeled, focal—very sparse intercellular membrane—or weak cytoplasmic
Esophagus: Squamous cell carcinoma ^a	4/15 labeled 10/15 labeled, heterogeneous or weak
Gastric carcinoma ^b	108/413 labeled, homogeneous linear expression and comparable to normal gastric mucosa 95/413 labeled, moderately reduced linear or dotted intercellular staining in 20–60% tumor cells 86/413 labeled, highly reduced finely dotted intercellular staining in <20% cells 124/413 unlabeled or weak dotted immunoreactivity <5% cells. Special pattern of E-cadherin expression was present in a small percentage of signet ring-cell carcinomas and of undifferentiated carcinomas, where a strong intracytoplasmic “plaque-like” expression of E-cadherin could be demonstrated, sometimes in combination with a very weak immunoreactivity at tumor-cell membrane.
Endometriosis ^a	3/9 labeled 6/9 labeled, heterogeneous

Skin: Melanocytic naevi ^b	20/20 labeled membranous, superficial compartment of naevi and at the borders between naevus cell nests and keratinocytes of the surrounding epidermis. Junctional naevus cell nests were more heterogeneous than in the epidermal component or diffusely cytoplasmic. Melanocytic cells in the papillary dermis were unlabeled.
Skin: Malignant melanoma ^b	13/70 labeled, membranous 30/70 labeled, heterogeneous 11/70 cytoplasmic 16/70 unlabeled Immunoreactivity associated with histological types of melanomas: 1/34 superficial spreading melanoma-labeled, membranous 18/34 superficial spreading melanoma-labeled, heterogeneous 8/34 superficial spreading melanoma-cytoplasmic 7/34 superficial spreading melanoma-unlabeled 3/8 nodular melanoma-labeled, heterogeneous 2/8 nodular melanoma-cytoplasmic 3/8 nodular melanoma-unlabeled 4/9 lentigo malignant melanoma-labeled, heterogeneous 1/9 lentigo malignant melanoma-cytoplasmic 4/9 lentigo malignant melanoma-unlabeled 1/8 lentiginous melanoma-labeled, membranous 5/8 lentiginous melanoma-labeled, heterogeneous 2/8 lentiginous melanoma-unlabeled 11/11 metastatic melanoma-labeled, membranous
Prostate cancer: Primary tumors ^a	44/84 labeled, homogeneous 27/84 labeled, heterogeneous 13/84 unlabeled
Metastatic lesions ^a	2/8 labeled, homogeneous 5/8 labeled, heterogeneous 1/8 unlabeled Most differentiated cancers demonstrated strong and uniformly labeled immunoreactivity at the cell-cell boundaries, whereas an increasing percentage of less well differentiated to poorly differentiated tumors demonstrated heterogeneous or unlabeled immunoreactivity.

^aTesting was performed on frozen sections

^bTesting was performed on paraffin-embedded formalin-fixed tissue sections

Français

Réf. M3612

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human E-cadherin, Clone NCH-38 est destiné à une utilisation en immunohistochimie (IHC). Cet anticorps est utile pour l'identification des cellules exprimant la E-cadhérine dans les tissus sains et néoplasiques.^{1-3,5-8,10,11} Les résultats obtenus facilitent la classification du carcinome mammaire canalaire. La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histochimiques non immunologiques.

Synonymes

E-CD, uvomoruline, L-CAM, Arc-1, ou CAM cellulaire 120/180¹⁻³

Résumé et explication

La E-cadhérine est une molécule d'adhésion cellulaire transmembranaire de 120 kDa. Le gène a été localisé sur le chromosome 16q22.1. Dans son domaine extracellulaire, la E-cadhérine est impliquée dans l'adhésion cellule-cellule via des interactions homophiles régulées par le calcium tandis que, dans son domaine intracellulaire, la E-cadhérine se connecte au cytosquelette d'actine via des caténines. La E-cadhérine a une fonction importante dans l'adhésion intercellulaire des cellules épithéliales, l'établissement de la polarisation épithéliale, la différenciation glandulaire et la stratification. Elle est localisée principalement dans les jonctions adhérentes et elle concentre le plasminogène urokinase et le récepteur du facteur de croissance épidermique dans les sites de contacts cellulaires.^{5,6}

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du kit de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.

Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris fourni sous forme liquide comme surnageant de culture tissulaire dans un tampon Tris-HCl à 0,05 mol/L, de pH 7,2, contenant de l'azide de sodium à 0,015 mol/L. Ce produit contient une protéine stabilisante.

Clone : NCH-38⁴ Isotype : IgG1, kappa

Concentration en IgG de souris : Voir l'étiquette sur le flacon.

La concentration en protéines peut varier d'un lot à l'autre sans que cela influence la dilution optimale. Le titre de chaque lot est comparé et ajusté par rapport à un lot de référence pour assurer des performances de coloration immunohistochimiques cohérentes d'un lot à l'autre.

Immunogène

E-cadhérine (uvomoruline) et protéine recombinante GST⁴

Spécificité

L'anti-E-cadhérine, NCH-38 reconnaît la forme mature de 120 kDa et le fragment de 82 kDa de la E-cadhérine dans les Western blots de lysats de cellules A431.⁴

Matériels requis mais non fournis

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako et/ou les instructions du système de détection. Diluant recommandé pour les procédures IHC : Antibody Diluent (réf. S0809)

Le contrôle négatif suivant est recommandé pour les procédures IHC : Mouse IgG1 (réf. X0931)

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, le NaN₃ 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.
4. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées.
5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.
6. Les réactifs non utilisés doivent être éliminés conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.

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'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons

Coupes en paraffine : L'anti-E-cadhérine, NCH-38 peut être utilisé pour des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. Les coupes de tissus déparaffinées doivent être traitées à la chaleur avant d'appliquer la procédure de coloration IHC. La restauration des cibles implique l'immersion des coupes de tissus dans une solution tampon préchauffée et le maintien de la chaleur, dans un bain-marie (95-99 °C), une étuve (95-99 °C) ou un autocuiseur (121 °C). Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des Silanized Slides (réf. S3003). La solution Target Retrieval Solution (réf. S1700) ou le 10x Concentrate (réf. S1699) sont recommandés lors d'un protocole de chauffage de 20 minutes.

Coupes congelées et frottis cellulaires

L'anti-E-cadhérine, NCH-38 peut être utilisé pour le marquage des coupes congelées fixées à l'acétone ou des frottis cellulaires fixés. Aucun démasquage des cibles ou des antigènes n'est requis.^{3,8-10}

Procédure de coloration

Il ne s'agit là que de conseils. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du type de prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être validées individuellement par chaque laboratoire. Les performances de cet anticorps doivent être établies par l'utilisateur lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuelle ou plates-formes automatisées.

Dilution : Le M3612 peut être utilisé à une dilution comprise entre 1:50 et 1:100 lors de la procédure IHC faisant appel aux systèmes de détection LSAB2 et HRP, Liquid DAB. Suivre la procédure pour le système de détection sélectionné.

Contrôle de qualité : Les tissus de contrôle positifs et négatifs, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients.

Interprétation de la coloration

Le motif de coloration cellulaire pour l'anti-E-cadhérine, NCH-38 est membranaire et/ou cytoplasmique.

Performances

Tissus sains : L'expression de la E-cadhérine a été démontrée par immunohistochimie dans 40/40 échantillons sains d'urothélium (congelés et inclus en paraffine).⁸ La glande mammaire humaine saine a fortement exprimé la E-cadhérine au niveau des bordures intercellulaires des cellules luminales à la fois des canaux interlobulaires et des canaux et ductules intralobulaires terminaux mais l'expression était nettement plus faible dans les cellules myoépithéliales des canaux et ductules (congelées et incluses en paraffine).⁹ Les cellules épithéliales squameuses de l'œsophage se sont révélées fortement immunoréactives (15/15) sur les bordures cellule-cellule, excepté dans la couche kératinisante la plus superficielle. De même, la E-cadhérine a été immunolocalisée dans la muqueuse gastrique saine au niveau des bordures cellule-cellule de l'épithélium foveolaire ainsi que dans les cryptes gastriques et les glandes gastriques profondes (congelées et paraffine).^{1,2} Dans l'endomètre sain, la quasi-totalité des glandes a révélé une forte expression de la E-cadhérine (congelées).¹⁰ L'immunoréactivité de la E-cadhérine a été localisée dans la peau saine le long des surfaces latérales et supérieures des kératinocytes basaux au niveau des bordures intercellulaires mais était absente de la surface basale de la cellule. Dans les couches suprabasales de la peau, l'expression de la E-cadhérine était localisée uniformément autour de la périphérie des cellules, cependant, aucune expression n'a été observée sur la couche cornéenne superficielle. Les structures annexielles de la peau ont également démontré l'immunoréactivité de la E-cadhérine, incluant la coloration membranaire de l'enveloppe extérieure des cellules (les enveloppes intérieures des cellules étaient négatives), des cellules acinaires germinatives dans les glandes sébacées et des cellules des glandes sudoripares de la peau. Aucune expression de la E-cadhérine n'a été démontrée dans le derme de la peau saine (paraffine).⁵ La E-cadhérine était également fortement exprimée dans les cellules épithéliales de prostate saine, en particulier dans les zones de contact cellule-cellule (congelées).³

Tissus anormaux : L'immunoréactivité de la E-cadhérine a été démontrée dans plusieurs types de cellules anormales.^{1-3,5-8,9,10} Le Tableau 1 résume l'expression de la E-cadhérine dans les tissus anormaux.

Tableau 1. Réactivité dans les tissus anormaux

Type de tissu	Éléments tissulaires marqués et non marqués et motif de coloration
Vessie : Carcinome primaire à cellules transitionnelles de la vessie ^{a,b}	13/40 marqués, coloration homogène (membranaire) 13/40 marqués, coloration hétérogène 14/40 non marqués Haute intensité (grades IIb et III) : 10/24 marqués Faible intensité (grades I et IIa) : 16/16 marqués Stade superficiel (Ta et Ti) : 21/22 marqués Stade invasif (T2, T3 et T4) : 5/18 marqués
Cancer du sein : Sans atteinte ganglionnaire ^b (sans chimiothérapie ou traitement hormonal)	136/168 marqués
Carcinome mammaire : Canalaire ^{a,b}	55/87 ^a fortement marqués, majorité des cellules 29/87 ^a plus faiblement marqués, coloration hétérogène 14/24 ^b fortement marqués, majorité des cellules 10/24 ^b plus faiblement marqués, coloration hétérogène
Carcinome mammaire : Lobulaire ^{a,b}	3/21 ^a marqués, localement : coloration de la membrane intercellulaire très peu dense ou cytoplasmique faible 3/14 ^a marqués, localement : coloration de la membrane intercellulaire très peu dense ou cytoplasmique faible
Œsophage : Carcinome à cellules squameuses ^a	4/15 marqués 10/15 marqués, coloration hétérogène ou faible
Carcinome gastrique ^b	108/413 marqués, expression linéaire homogène et comparable à la muqueuse gastrique normale 95/413 marqués, coloration intercellulaire linéaire modérément réduite ou à points de 20 à 60% des cellules tumorales 86/413 marqués, coloration intercellulaire hautement réduite à points fins dans < 20% des cellules 124/413 non marqués ou immunoréactivité faible à points < 5% des cellules. Un schéma spécial de l'expression de la E-cadhérine a été observé dans un faible pourcentage de carcinomes à cellules en bague à chaton et de carcinomes indifférenciés, où une forte expression intracytoplasmique de type plaque de la E-cadhérine a pu être démontrée, parfois en association à une très faible immunoréactivité au niveau de la membrane cellulaire de la tumeur.
Endométriose ^a	3/9 marqués 6/9 marqués, coloration hétérogène
Peau : Nævus mélanocytaire ^b	20/20 marqués, coloration membranaire, compartiments superficiels des nævi et aux bordures entre les nids cellulaires de nævus et les kératinocytes de l'épiderme environnant. Les nids cellulaires de nævus de jonction étaient plus hétérogènes que dans le composant épidermique ou cytoplasmiques diffus. Les cellules mélanocytaires dans le derme papillaire n'étaient pas marquées.
Peau : Mélanome malin ^b	13/70 marqués, coloration membranaire 30/70 marqués, coloration hétérogène 11/70 coloration cytoplasmique 16/70 non marqués Immunoréactivité associée aux types histologiques de mélanomes : 1/34 mélanome à extension superficielle marqué, coloration membranaire 18/34 mélanomes à extension superficielle marqués, coloration hétérogène 8/34 mélanomes à extension superficielle marqués, coloration cytoplasmique 7/34 mélanomes à extension superficielle non marqués 3/8 mélanomes nodulaires marqués, coloration hétérogène 2/8 mélanomes nodulaires, coloration cytoplasmique 3/8 mélanomes nodulaires non marqués 4/9 mélanomes à lentigo malins marqués, coloration hétérogène 1/9 mélanome à lentigo malin marqué, coloration cytoplasmique 4/9 mélanomes à lentigo malin non marqués 1/8 mélanome à lentigo marqué, coloration membranaire 5/8 mélanomes à lentigo marqués, coloration hétérogène 2/8 mélanomes à lentigo non marqués 11/11 mélanomes métastatiques marqués, coloration membranaire
Cancer de la prostate : Tumeurs primaires ^a	44/84 marqués, coloration homogène 27/84 marqués, coloration hétérogène 13/84 non marqués
Lésions métastatiques ^a	2/8 marqués, coloration homogène 5/8 marqués, coloration hétérogène 1/8 non marqué La plupart des cancers différenciés ont présenté une immunoréactivité forte et uniformément marquée aux bordures cellule-cellule, alors qu'un pourcentage en augmentation de tumeurs moins bien différenciées à mal différenciées a présenté une immunoréactivité hétérogène ou non marquée.

^aLes analyses ont été réalisées sur des coupes congelées

^bLes analyses ont été réalisées sur des coupes de tissu fixées au formol et incluses en paraffine

Deutsch

Code-Nr. M3612

Verwendungszweck
Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human E-Cadherin, Clone NCH-38 ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Dieser Antikörper dient zur Erkennung von E-Cadherin-exprimierenden Zellen in gesunden und neoplastischen Geweben.^{1-3, 5-8, 10, 11} Die Ergebnisse unterstützen die Klassifizierung von duktalem Brustkarzinomen. Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer eintretenden oder ausbleibenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden. Dieser Antikörper kommt nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen zum Einsatz.

Synonyme
E-CD, Uvomorulin, L-CAM, Arc-1 oder Cell-CAM 120/180¹⁻³

Zusammenfassung und Erklärung
E-Cadherin ist ein 120-kDa-Transmembran-Zelladhäsionsmolekül. Das Gen wurde auf dem Chromosom 16q22.1 lokalisiert. In seiner extrazellulären Domäne ist E-Cadherin an der Zell-Zell-Adhäsion mittels kalziumregulierter homophiler Interaktionen beteiligt, während es sich in seiner intrazellulären Domäne mittels Cateninen an das Aktin-Zytoskelett bindet. E-Cadherin hat eine wesentliche Funktion bei der interzellulären Adhäsion von Epithelzellen, der Einrichtung der Epithelpolarisation sowie der Drüsendifferenzierung und Stratifizierung. Es ist hauptsächlich in den adhärenenten Verbindungen lokalisiert und konzentriert das Urokinase-Plasminogen und den epidermalen Wachstumsfaktorrezeptor an Zellkontaktstellen.^{5, 6}

Folgende Angaben bitte den *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien, Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, Lagerung, Gewebepreparation, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz
Monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form als Gewebekulturüberstand in 0.05 mol/L Tris-HCl-Puffer, pH 7.2, und 0.015 mol/L Natriumazid. Dieses Produkt enthält stabilisierendes Protein.

Klon: NCH-38⁴ Isotyp: IgG1, Kappa

Konzentration von Maus-IgG: Siehe Behälteretikett.

Die Proteinkonzentration kann zwischen Chargen abweichen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer jeder Charge wird mit dem einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färbegergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

Immunogen
E-Cadherin (Uvomorulin) und GST-rekombinantes Protein⁴

Spezifität
Anti-E-Cadherin, NCH-38, erkennt die ausgereifte 120-kDa-Form und das 82-kDa-Fragment von E-Cadherin beim Western-Blot von A431-Zelllysaten.⁴

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien
Siehe *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. Anweisungen des Detektionssystems. Empfohlenes Verdünnungsmittel für IHC-Verfahren: Antibody Diluent (Code-Nr. S0809)
Folgende Negativkontrolle wird für IHC-Verfahren empfohlen: Mouse IgG1 (Code-Nr. X0931)

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann NaN₃, 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.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Reagenzien sind entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Bestimmungen zu entsorgen.

Lagerung
Bei 2-8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Anfärbung beobachtet wird, die durch Abweichungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.

Gewebevorbereitung

Paraffinschnitte: Anti-E-Cadherin, NCH-38 kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Vor dem IHC-Färbeverfahren müssen die entparaffinierten Gewebeschnitte mit Wärme behandelt werden. Zur hitzeinduzierten Epitopdemaskierung (heat-induced epitope retrieval, HIER) gehört ein Eintauchen der Gewebeschnitte in eine vorgewärmte Pufferlösung und die Wärmeerhaltung in einem Wasser- oder Dampfbad (95-99 °C) oder einem Dampfdrucktopf (121 °C). Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von Silanized Slides (Code-Nr. S3003) empfohlen. Empfohlen werden Target Retrieval Solution (Code-Nr. S1700) oder 10x Concentrate (Code-Nr. S1699) für ein Wärmeprotokoll von 20 Minuten.

Gefrierschnitte und Zellausstriche

Anti-E-Cadherin, NCH-38 kann zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten oder fixierten Zellausstrichen verwendet werden. Es ist keine Demaskierung erforderlich.^{3, 8-10}

Färbeverfahren

Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Bedingungen können je nach Gewebetyp und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Leistung dieses Antikörpers sollte vom Benutzer bei einem Einsatz mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Systemen ermittelt werden.

Verdünnung: M3612 kann in der IHC mit dem LSAB2-, dem HRP- oder dem Liquid DAB-Detektionssystem bei Verdünnungen von 1:50 bis 1:100 verwendet werden. Das für das ausgewählte Detektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.

Qualitätskontrolle: Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster für Anti-E-Cadherin, NCH-38 ist membranös und/oder zytoplasmatisch.

Leistungseigenschaften

Normalgewebe: In (40/40) gesunden Urothelproben (gefroren und paraffineingebettet) wurde mit Immunhistochemie eine E-Cadherin-Expression nachgewiesen.⁸ In der gesunden menschlichen Brustdrüse wurde E-Cadherin stark in den interzellulären Grenzen der luminalen Zellen sowohl von interlobulären Gängen als auch intralobulären terminalen Gängen und Kanälen exprimiert. Dagegen war die Expression in Myoepithelzellen der Gänge und Kanäle (gefroren und paraffineingebettet) wesentlich schwächer.⁹ Plattenepithelzellen in der Speiseröhre zeigten eine starke Immunreaktivität (15/15) an Zell-Zell-Grenzen, ausgenommen in der oberflächlichsten keratinisierenden Schicht. Zudem wurde E-Cadherin mittels Immunfärbung in gesunder gastrischer Mukosa an den Zell-Zell-Grenzen der foveolaren Epithel sowie in gastrischen Einbuchtungen und tief liegenden gastrischen Drüsen (paraffineingebettet) nachgewiesen.^{1, 2} In gesundem Endometrium zeigten nahezu alle Drüsen eine starke E-Cadherin-Expression (Gefrierschnitte).¹⁰ In gesunder Haut wurde entlang der lateralen und oberen Oberflächen basaler Keratinozyten an interzellulären Grenzen eine Immunreaktivität von E-Cadherin beobachtet, nicht jedoch an der Basalzell-Oberfläche. In den suprabasalen Hautschichten konnte eine E-Cadherin-Expression gleichmäßig um die Peripherie der Zellen lokalisiert werden, jedoch wurde keine Expression in der oberflächlichen Corneaschicht beobachtet. Die adnexen Strukturen der Haut zeigten ebenfalls eine Immunreaktivität des E-Cadherins, einschließlich einer Membranfärbung der äußeren Wurzelscheidenzellen (die inneren Scheidenzellen reagierten negativ) sowie der azinösen Keimzellen in den Talg- und Schweißdrüsenzellen der Haut. In der Dermis gesunder Haut (paraffineingebettet) wurde keine E-Cadherin-Expression nachgewiesen.⁵ E-Cadherin wurde zudem in den Epithelzellen gesunder Prostata stark exprimiert, insbesondere in Bereichen mit interzellulärem Kontakt (Gefrierschnitte).³

Anormale Gewebe: Eine E-Cadherin-Immunreaktivität wurde in einer Anzahl anormaler Zelltypen nachgewiesen.^{1-3, 5-8, 9, 10} Tabelle 1 fasst die Expression von E-Cadherin in pathologischen Geweben zusammen.

Tabelle 1. Reaktivität in anormalem Gewebe

<i>Gewebetyp</i>	<i>Markierte und nicht markierte Anfärbung von Gewebeelementen und Färbemuster</i>
Blase: primäres Übergangszell-Karzinom der Harnblase ^{a, b}	13/40 markiert, homogen (membranös) 13/40 markiert, heterogen 14/40 nicht markiert Hochgradig (Grad IIb und III): 10/24 markiert Niedriggradig (Grad I und IIa): 16/16 markiert Oberflächlich (Ta und Ti): 21/22 markiert Invasiv (T2, T3 und T4): 5/18 markiert
Brustkrebs: Knoten negativ ^b (ohne Chemotherapie oder Hormonbehandlung)	136/168 markiert
Mammakarzinom: duktal ^{a, b}	55/87 ^a stark markiert, Großteil der Zellen 29/87 ^a schwächer markiert, heterogen 14/24 ^b stark markiert, Großteil der Zellen 10/24 ^b schwächer markiert, heterogen
Mammakarzinom: lobulär ^{a, b}	3/21 ^a markiert, fokal – sehr spärlich an der interzellulären Membran – oder schwach zytoplasmatisch 3/14 ^b markiert, fokal – sehr spärlich an der interzellulären Membran – oder schwach zytoplasmatisch
Speiseröhre: Plattenepithelkarzinom ^a	4/15 markiert 10/15 markiert, heterogen oder schwach
Magenkarzinom ^b	108/413 markiert, homogene lineare Expression, mit gesunder gastrischer Mukosa vergleichbar 95/413 markiert, mäßig verringerte lineare oder gepunktete interzelluläre Färbung bei 20-60% der Tumorzellen 86/413 markiert, stark verringerte, fein gepunktete interzelluläre Färbung bei < 20% der Zellen 124/413 nicht markierte oder schwach gepunktete Immunreaktivität bei 5% der Zellen Bei einem kleinen Prozentsatz von Siegelringzell-Karzinomen und undifferenzierten Karzinomen lag ein Spezialmuster der E-Cadherin-Expression vor, bei dem eine starke intrazytoplasmatische,

	plaqueähnliche Expression von E-Cadherin nachgewiesen werden konnte, manchmal in Kombination mit einer sehr schwachen Immunreaktivität an der Tumorzellmembran.
Endometriose ^a	3/9 markiert 6/9 markiert, heterogen
Haut: Melanozyten-Naevi ^b	20/20 markiert, membranös, oberflächliches Kompartiment der Naevi und an den Grenzen zwischen Naevuszellnestern und Keratinozyten der umgebenden Epidermis. Verbindende Naevuszellnester waren heterogener als in der epidermalen Komponente oder diffus zytoplasmatisch. Melanozytische Zellen in der papillären Dermis wurden nicht markiert.
Haut: malignes Melanom ^b	13/70 markiert, membranös 30/70 markiert, heterogen 11/70 zytoplasmatisch 16/70 nicht markiert Immunreaktivität verschiedener histologischer Arten von Melanomen: 1/34 oberflächlich ausbreitend, melanom-markiert, membranös 18/34 oberflächlich ausbreitend, melanom-markiert, heterogen 8/34 oberflächlich ausbreitend, melanom-zytoplasmatisch 7/34 oberflächlich ausbreitend, nicht melanom-markiert 3/8 nodulär, melanom-markiert, heterogen 2/8 nodulär, melanom-zytoplasmatisch 3/8 nodulär, nicht melanom-markiert 4/9 lentigo-maligne, melanom-markiert, heterogen 1/9 lentigo-maligne, melanom-zytoplasmatisch 4/9 lentigo-maligne, nicht melanom-markiert 1/8 lentiginös, melanom-markiert, membranös 5/8 lentiginös, melanom-markiert, heterogen 2/8 lentiginös, nicht melanom-markiert 11/11 metastatisch melanom-markiert, membranös
Prostatakarzinom: primäre Tumore ^a	44/84 markiert, homogen 27/84 markiert, heterogen 13/84 nicht markiert
Metastatische Läsionen ^a	2/8 markiert, homogen 5/8 markiert, heterogen 1/8 nicht markiert Die meisten differenzierten Krebsarten zeigten eine starke und gleichförmig markierte Immunreaktivität an den Zell-Zell-Grenzen, wogegen ein zunehmender Anteil schwächer bis schwach differenzierter Tumore eine heterogene oder nicht markierte Immunreaktivität aufwies.









^aDie Tests wurden auf Gefrierschnitten durchgeführt

^bDie Tests wurden auf paraffineingebetteten, formalinfixierten Gewebeschnitten durchgeführt

References/Bibliographie/Literaturnachweise

1. Shiozaki H, Tahara H, Oka H, Miyata M, Kobayashi K, Tamura S, Iihara K, Doki Y, Hirano S, Takeichi M, Mori T. Expression of immunoreactive E-cadherin adhesion molecules in human cancers. *Am J Pathol* 1991;139(1):17-23
2. Gabbert HE, Mueller W, Schneider A, Meier S, Moll R, Birchmeier W, Hommel G. Prognostic value of E-cadherin expression in 413 gastric carcinomas. *Int J Cancer* 1996;69(3):184-9
3. Umbas R, Schalken JA, Aalders TW, Carter BS, Karthaus HFM, Schaafsma HE, Debruyne FMJ, Isaacs WB. Expression of the cellular adhesion molecule E-cadherin is reduced or absent in high-grade prostate cancer. *Canc Res* 1992;52(18):5104-9
4. Antibody Certification 6/8/99. On file at Dako.
5. Silye R, Karayiannakis AJ, Syrigos KN, Poole S, Van Noorden S, Batchelor W, Regele H, Sega W, Boesmueller H, Krausz T, Pignatelli M. E-cadherin/catenin complex in benign and malignant melanocytic lesions. *J Pathol* 1998;186(4):350-5
6. Heimann R, Lan F, McBride R, Hellman S. Separating favorable from unfavorable prognostic markers in breast cancer: the role of E-cadherin. *Canc Res* 2000;60(2):298-304
7. Bracke ME, Van Roy FM, Mareel MM. The E-cadherin/catenin complex in invasion and metastasis. *Cur Top Microbiol Immunol* 1996;213 (Pt 1):123-61
8. Garcia del Muro X, Torregrosa A, Munoz J, Castellsague X, Condom E, Vignes F, Arance A, Fabra A, Germa JR. Prognostic value of the expression of E-cadherin and β -catenin in bladder cancer. *Eur J Cancer* 2000;36(3):357-62
9. Moll R, Mitze M, Frixen UH, Birchmeier W. Differential loss of E-cadherin expression in infiltrating ductal and lobular breast carcinomas. *Am J Pathol* 1993;143(6):1731-42
10. Gaetje R, Kotzian S, Herrmann G, Baumann R, Starzinski-Powitz A. Nonmalignant epithelial cells, potentially invasive in human endometriosis, lack the tumor suppressor molecule E-cadherin. *Am J Pathol* 1997;150(2):461-7

Explanation of symbols / Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

 <p>Catalogue number Référence catalogue Bestellnummer</p>	 <p>Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich</p>	 <p>In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum</p>
 <p>Manufacturer Fabricant Hersteller</p>	 <p>Batch code Code du lot Chargenbezeichnung</p>	 <p>Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten</p>
 <p>Use by Utiliser avant Verwendbar bis</p>	 <p>Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU</p>	



Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763



Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595
www.agilent.com

PT0039/Rev D

Revision 2017.06