

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Synaptophysin
Clone DAK-SYNAP**

Code M7315

ENGLISH

Intended use	<p>For in vitro diagnostic use.</p> <p>Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin, Clone DAK-SYNAP, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). This antibody labels synaptophysin-expressing cells in normal and neoplastic formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue (1, 2). 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.</p>
Synonyms for antigen	<p>Major synaptic vesicle protein p38, protein p38.</p>
Summary and explanation	<p>Synaptophysin is an acidic, homo-oligomeric, integral membrane glycoprotein (monomer = 38 kDa) originally isolated from rat brain (3) and belongs to a family of proteins with four transmembrane domains including synaptogyrin and synaptoporin (4). Despite being the most abundant synaptic vesicle membrane protein, the function remains enigmatic. Studies have shown numerous of diverse roles for synaptophysin such as to promote the formation of highly curved membranes in synaptic vessels, exocytosis, synapse formation, biogenesis and endocytosis of synaptic vessels as well as a role in learning and memory through regulation of synaptic transmission in neuronal circuits (4).</p> <p>Synaptophysin is localized to presynaptic vesicles of all neurons and in corresponding vesicles in neuroendocrine cells (5). Besides localization in neuroendocrine cells, synaptophysin is also found in non-neuroendocrine cells in adrenal cortical epithelia (3).</p> <p>Antibodies to synaptophysin have been shown to aid in the classification of neuroendocrine neoplasms, including neoplasms of epithelial type (6-8), nervous system neoplasms with neuronal differentiation (5, 6, 9) and adrenocortical neoplasms (10, 11).</p> <p>Refer to <i>Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> 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.</p>
Reagent provided	<p>Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant (containing fetal calf serum) dialyzed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and containing 0.015 mol/L sodium azide.</p> <p><u>Clone:</u> DAK-SYNAP. <u>Isotype:</u> IgG1, kappa.</p> <p><u>Mouse IgG concentration:</u> See label on vial.</p> <p>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.</p>
Immunogen	<p>A recombinant protein fragment corresponding to the C-terminal cytoplasmic domain of human synaptophysin.</p>
Specificity	<p>In Western blot analysis of human neuroblastoma cell lysate, the antibody labels a major band at 40 kDa corresponding to the expected molecular weight of synaptophysin.</p>
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> 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, 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. 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 solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.
Storage	<p>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.</p>
Specimen preparation	<p><u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.</p> <p><u>Pre-treatment:</u> Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required. Optimal results are obtained by pretreating tissues with HIER using diluted EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8004). Deparaffinization, rehydration and epitope retrieval can be performed in Dako PT Link. For details, please refer to PT Link User Guide. The following parameters should be used for PT Link: Pre-heat temperature: 65 °C; epitope retrieval temperature and time: 97 °C for 20 (±1) minutes; cool down to 65 °C. Remove slide rack from PT tank and immediately dip slides in jar/tank (e.g., PT Link Rinse Station (Code PT109)) containing diluted room temperature EnVision FLEX Wash Buffer (20x) (Code K8007). Leave slides in Wash Buffer for 1-5 minutes.</p> <p>The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended. After staining, the sections must be dehydrated, cleared and mounted using a permanent mounting method.</p>
Staining procedure	<p>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.</p> <p><u>Dilution:</u> The recommended dilution of Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin, Clone DAK-SYNAP, Code M7315, is 1:50. Dilute the antibody in Dako Antibody Diluent (Code S0809). Incubate pretreated tissue sections for 20 minutes at room temperature..</p> <p><u>Negative control:</u> The recommended negative control reagent is Dako Negative Control, Mouse IgG1 (Code X0931), diluted to the same IgG concentration as the primary antibody. Unless the stability of the diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, dilute these reagents immediately prior to use. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens.</p> <p><u>Visualization:</u> The recommended visualization system is EnVision FLEX, High pH (Code K8000/K8010) using a 20 minute incubation at room temperature. Follow the procedure enclosed with the selected visualization system(s).</p>

Automation: The antibody is well-suited for immunohistochemical staining using automated platforms, such as Dako Autostainer, Autostainer Plus and Autostainer Link as well as PT Link for pre-treatment.

Counterstaining: The recommended counterstain is EnVision FLEX Hematoxylin (Code K8008/K8018).

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. The positive control tissue should include colon and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in the "Performance characteristics" section.

Staining interpretation

The cellular staining pattern is cytoplasmic.

Performance characteristics

Normal tissues: In colon, axons of the nerves in the tunica muscularis and in the lamina propria show a moderate to strong staining reaction, whereas the neuroendocrine cells in the epithelial surface show a weak to moderate staining reaction. Occasionally, cytoplasmic labeling of goblet cells in colon and small intestine can be observed.

Summary of Normal Tissue Reactivity (1).

Tissue Type (# tested)	Labeled Tissue Elements	Tissue Type (# tested)	Labeled Tissue Elements
Adrenal (3)	3/3 Adrenal cells (10-25%), cytoplasmic	Ovary (3)	1/3 Ganglion cells and stromal cells (10%) cytoplasmic
Bone marrow (3)	0/3	Pancreas (3)	3/3 Islet cells and ganglion cells (100%), cytoplasmic
Breast (3)	0/3	Pituitary (3)	2/3 Pituitary cells (100%) cytoplasmic
Cerebellum (2)	2/2 Ganglion and neuronal cells (100%), cytoplasmic	Placenta (3)	0/3
Cerebrum (3)	3/3 Ganglion and neuronal cells (100%), cytoplasmic	Prostate (3)	1/3 Stromal cells (50%), cytoplasmic
Cervix (3)	2/3 Ganglion cells (50%), cytoplasmic	Salivary gland (3)	3/3 Neuronal cells (100%), cytoplasmic
Colon (3)	3/3 Ganglion cells and neuroendocrine cells (100%), cytoplasmic	Skin (3)	2/3 Basal membrane cells (50%) diffuse
Endometrium (3)	0/3	Small intestine (3)	3/3 Neuroendocrine cells (100%), cytoplasmic
Esophagus (3)	3/3 Ganglion cells (100%), cytoplasmic 3/3 Fibroblasts (50%), cytoplasmic	Spinal cord (3)	3/3 Ganglion cells (100%), cytoplasmic
Fallopian tube (3)	0/3	Spleen (3)	0/3
Kidney (3)	0/3	Stomach (3)	3/3 Neuroendocrine cells (100%), cytoplasmic
Liver (3)	0/3	Testis (3)	0/3
Lung (3)	0/3	Thyroid (3)	0/3
Lymph node (3)	0/3	Tonsil (3)	0/3
Muscle, cardiac (3)	3/3 Fibroblasts (20%), cytoplasmic	Uterus (3)	0/3
Muscle, skeletal (3)	0/3	Ureter (3)	3/3 Stromal cells (5-10%) cytoplasmic
Nerve, peripheral (3)	3/3 Ganglion cells (10-100%), cytoplasmic	Urinary bladder (3)	0/3

Abnormal tissues: The antibody labeled 4/4 small cell lung carcinoma, 2/6 large cell lung carcinoma, 2/2 atypical lung carcinoid, 3/3 colon carcinoid, 5/5 small intestine carcinoid, 1/1 pancreas neuroendocrine neoplasia, 1/1 ganglioneuroma, 3/3 thyroid medullary carcinoma, 2/3 lung adenocarcinoma, 1/2 undifferentiated lung adenocarcinoma, 2/4 colon adenocarcinoma, 1/4 small intestine adenocarcinoma, 1/2 pancreas adenocarcinoma, and 0/3 thyroid, papillary carcinoma (2).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin, Clone DAK-SYNAP, est destiné à une utilisation en immunohistochimie (IHC). Cet anticorps marque les cellules exprimant la synaptophysine dans des coupes incluses en paraffine et fixées au formol (FFPE) de tissus sains et néoplasiques (1, 2). 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 de l'antigène

Protéine majeure des vésicules synaptiques p38, protéine p38.

Résumé et explication

La synaptophysine est une glycoprotéine transmembranaire acide et homo-oligomérique (monomère = 38 kDa), isolée à l'origine à partir de cerveau de rat (3). Elle appartient à une famille de protéines comportant quatre domaines transmembranaires, notamment la synaptogyrine et la synaptoporine (4). Bien qu'elle représente la protéine membranaire la plus abondante dans les vésicules synaptiques, sa fonction reste énigmatique. Des études ont mis en évidence de nombreux rôles différents pour cette protéine : promotion de la formation des membranes incurvées des vésicules synaptiques, exocytose, formation des synapses, biogenèse et endocytose des vésicules synaptiques, et rôle dans l'apprentissage et la mémoire via la régulation de la transmission synaptique dans les circuits neuronaux (4).

La synaptophysine est située dans les vésicules présynaptiques de tous les neurones et dans les vésicules correspondantes des cellules neuroendocrines (5). Elle est également présente dans les cellules non neuroendocrines de l'épithélium corticosurrénal (3).

Les anticorps dirigés contre la synaptophysine sont utiles pour la classification des néoplasmes neuroendocrines, y compris les néoplasmes de type épithélial (6-8), les néoplasmes du système nerveux présentant une différenciation neuronale (5, 6, 9) et les néoplasmes corticosurrénaux (10, 11).

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 cellulaire (contenant du sérum fœtal de veau) dialysé contre 0,05 mol/L de Tris-HCl, à pH 7,2, et contenant 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Clone : DAK-SYNAP. **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

Fragment de protéine recombinante correspondant au domaine C-terminal cytoplasmique de la synaptophysine humaine.

Spécificité

L'analyse par Western blot de lysat de cellules de neuroblastome humain révèle que l'anticorps marque une bande principale à 40 kDa correspondant au poids moléculaire attendu de la synaptophysine.

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des

accumulations d'azides métalliques hautement explosives. 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, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.
6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées 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'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons tissulaires doit être d'environ 4 µm.

Prétraitement : Le prétraitement des coupes de tissus fixées au formol et incluses en paraffine par restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER) est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus par la méthode HIER, à l'aide de la solution diluée EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (réf. K8004). Le déparaffinage, la réhydratation et la restauration de l'épitope peuvent être réalisés dans l'appareil PT Link de Dako. Pour plus de détails, se reporter au Guide d'utilisation du PT Link. Les paramètres suivants doivent être utilisés pour le PT Link : Température de préchauffage : 65 °C ; température et durée de restauration d'épitope : 97 °C pendant 20 minutes (±1 minute) ; laisser refroidir jusqu'à 65 °C. Retirer le portoir à lames de la cuve du PT et plonger immédiatement les lames dans un récipient/une cuve (par ex., PT Link Rinse Station [réf. PT109]) contenant du tampon de lavage EnVision FLEX Wash Buffer (20x) (réf. K8007), dilué et à température ambiante. Laisser les lames dans le tampon de lavage pendant 1 à 5 minutes.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissu sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser les lames FLEX IHC Microscope Slides (réf. K8020). Une fois la procédure de coloration terminée, les coupes doivent être déshydratées, éclaircies et montées selon une méthode de montage permanent.

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 : La dilution recommandée pour l'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin, Clone DAK-SYNAP, réf. M7315, est de 1:50. Diluer l'anticorps dans le diluant Dako Antibody Diluent (réf. S0809). Incuber les coupes de tissu prétraitées pendant 20 minutes à température ambiante.

Contrôle négatif : Le réactif de contrôle négatif recommandé est le Dako Negative Control, Mouse IgG1 (réf. X0931), dilué à la même concentration en IgG que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie lors de la procédure de coloration en cours, diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation. Des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patients.

Visualisation : Le système de visualisation recommandé est le système EnVision FLEX, High pH (réf. K8000/K8010) avec une durée d'incubation de 20 minutes à température ambiante. Suivre la procédure incluse dans le(s) système(s) de révélation sélectionné(s).

Automatisation : L'anticorps est bien adapté à la coloration immunohistochimique sur les plates-formes automatisées, telles que les systèmes Dako Autostainer, Autostainer Plus et Autostainer Link ainsi que le PT Link pour le prétraitement.

Contre-coloration : Le contre-colorant recommandé est le produit EnVision FLEX Hematoxylin (réf. K8008/K8018).

Contrôle de qualité : Les tissus de contrôle positif et négatif, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients. Le tissu de contrôle positif doit comprendre le côlon et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que ceux décrits pour ce tissu à la section "Performances".

Interprétation de la coloration

Le motif de coloration cellulaire est cytoplasmique.

Performances

Tissus sains : Dans le côlon, les axones des nerfs dans la tunica muscularis et la lamina propria présentent une coloration modérée à forte, tandis que les cellules neuroendocrines de la surface épithéliale présentent une coloration faible à modérée. Parfois, un marquage cytoplasmique des cellules calciformes du côlon et de l'intestin grêle peut être observé.

Résumé de la réactivité dans les tissus sains (1).

Type de tissu (nb. testés)	Éléments tissulaires marqués	Type de tissu (nb. testés)	Éléments tissulaires marqués
Amygdale (3)	0/3	Œsophage (3)	3/3 cellules ganglionnaires (100%), coloration cytoplasmique 3/3 fibroblastes (50%), coloration cytoplasmique
Cerveau (3)	3/3 cellules ganglionnaires et cellules neuronales (100%), coloration cytoplasmique	Ovaire (3)	1/3 cellules ganglionnaires et cellules stromales (10%), coloration cytoplasmique
Cervelet (2)	2/2 cellules ganglionnaires et cellules neuronales (100%), coloration cytoplasmique	Pancréas (3)	3/3 cellules des îlots pancréatiques et cellules ganglionnaires (100%), coloration cytoplasmique
Col de l'utérus (3)	2/3 cellules ganglionnaires (50%), coloration cytoplasmique	Peau (3)	2/3 cellules membranaires basales (50%), coloration diffuse
Côlon (3)	3/3 cellules ganglionnaires et cellules neuroendocrines (100%), coloration cytoplasmique	Placenta (3)	0/3
Endomètre (3)	0/3	Poumon (3)	0/3
Estomac (3)	3/3 cellules neuroendocrines (100%), coloration cytoplasmique	Prostate (3)	1/3 cellules stromales (50%), coloration cytoplasmique
Foie (3)	0/3	Rate (3)	0/3
Ganglion lymphatique (3)	0/3	Rein (3)	0/3
Glande salivaire (3)	3/3 cellules neuronales (100%), coloration cytoplasmique	Sein (3)	0/3
Hypophyse (3)	2/3 cellules hypophysaires (100%), coloration cytoplasmique	Surrénale (3)	3/3 cellules surrénales (10-25%), coloration cytoplasmique
Intestin grêle (3)	3/3 cellules neuroendocrines (100%), coloration cytoplasmique	Testicule (3)	0/3
Moelle épinière (3)	3/3 cellules ganglionnaires (100%), coloration cytoplasmique	Thyroïde (3)	0/3
Moelle osseuse (3)	0/3	Trompe de Fallope (3)	0/3
Muscle, cardiaque (3)	3/3 fibroblastes (20%), coloration cytoplasmique	Urètre (3)	3/3 cellules stromales (5-10%), coloration cytoplasmique
Muscle, squelettique (3)	0/3	Utérus (3)	0/3
Nerf périphérique (3)	3/3 cellules ganglionnaires (10-100%), coloration cytoplasmique	Vessie (3)	0/3

Tissus anormaux : L'anticorps a marqué les éléments suivants : 4 carcinomes pulmonaires à petites cellules sur 4, 2 carcinomes pulmonaires à grandes cellules sur 6, 2 carcinoïdes pulmonaires atypiques sur 2, 3 carcinoïdes du côlon sur 3, 5 carcinoïdes de l'intestin grêle sur 5, 1 néoplasie neuroendocrine du pancréas sur 1, 1 ganglioneurome sur 1, 3 carcinomes médullaires de la thyroïde sur 3, 2 adénocarcinomes pulmonaires sur 3, 1 adénocarcinome pulmonaire indéterminé sur 2, 2 adénocarcinomes du côlon sur 4, 1 adénocarcinome de l'intestin grêle sur 4, 1 adénocarcinome du pancréas sur 2 et 0 carcinome papillaire de la thyroïde sur 3 (2).

Verwendungszweck	Zur In-vitro-Diagnostik. Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin, Clone DAK-SYNAP, ist für die Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Dieser Antikörper markiert Synaptophysin exprimierende Zellen in normalem und neoplastischem formalinfixiertem, paraffineingebettetem (FFPE) Gewebe (1, 2). 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 Bezeichnungen des Antigens	Bedeutsames synaptisches Vesikelprotein p38, Protein p38.
Zusammenfassung und Erklärung	Synaptophysin ist ein saures, homo-oligomeres, integrales Membran-Glykoprotein (Monomer = 38 kDa), das ursprünglich aus dem Gehirn von Ratten isoliert wurde (3) und zu einer Proteinfamilie mit vier Transmembran-Domänen gehört, die Synaptogyrin und Synaptoporin umfassen (4). Auch wenn es sich um das häufigste synaptische Gefäßmembranprotein handelt, bleibt seine Funktion rätselhaft. Studien haben zahlreiche Rollen des Synaptophysins gezeigt, etwa die Förderung der Bildung von stark gekrümmten Membranen in synaptischen Gefäßen, Exozytose, Synapsenbildung, Biogenese und Endozytose von synaptischen Gefäßen sowie eine Rolle im Lern- und Erinnerungsprozess durch die Regulierung der synaptischen Transmission in neuronalen Schaltkreisen (4). Synaptophysin ist in den präsynaptischen Vesikeln aller Neuronen und in den entsprechenden Vesikeln der neuroendokrinen Zellen lokalisiert (5). Neben der Lokalisierung in neuroendokrinen Zellen findet sich Synaptophysin ebenfalls in nicht neuroendokrinen Zellen in den Kortikalepithelien der Nebenniere (3). Antikörper gegen Synaptophysin unterstützen nachweislich die Klassifikation von neuroendokrinen Neoplasmen, z. B. Neoplasmen des epithelialen Typs (6-8), Neoplasmen des Nervensystems mit neuronaler Differenzierung (5, 6, 9) und Neoplasmen der Nebennierenrinde (10, 11). Folgende Angaben bitte den <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien; Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien; Lagerung; Gewebepvorbereitung; Färbeverfahren; Qualitätskontrolle; Fehlerbehandlung; Auswertung der Färbung; Allgemeine Beschränkungen.
Geliefertes Reagenz	Monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form als Zellkulturüberstand (mit fötalem Rinderserum), dialysiert gegen 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 und mit 0.015 mol/L Natriumazid. <u>Klon:</u> DAK-SYNAP. <u>Isotyp:</u> IgG1, Kappa. <u>Konzentration von Maus-IgG:</u> 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	Ein rekombinantes Proteinfragment, das der C-terminalen zytoplasmischen Domäne des humanen Synaptophysins entspricht.
Spezifität	In der Western-Blot-Analyse mit menschlichem Neuroblastom-Zellysate markiert der Antikörper in Übereinstimmung mit dem erwarteten Molekulargewicht von Synaptophysin eine starke Bande bei etwa 40 kDa.
Vorsichtsmaßnahmen	<ol style="list-style-type: none"> 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 Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metallazid-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 Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.
Lagerung	Bei 2-8 °C lagern. 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, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.
Gewebepvorbereitung	<u>Paraffinschnitte:</u> Der Antikörper kann für die Markierung von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden. <u>Vorbereitung:</u> Es ist eine Vorbehandlung der formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitte durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) erforderlich. Optimale Ergebnisse können durch HIER-Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8004) erzielt werden. Entparaffinierung, Rehydrierung und Epitopdemaskierung können im Dako PT Link durchgeführt werden. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Für PT Link sind die folgenden Parameter zu verwenden: Temperatur auf 65 °C vorwärmen; Epitopdemaskierungstemperatur und -zeit: 97 °C für 20 (±1) Minuten; auf 65 °C abkühlen. Den Objektträgerhalter aus dem PT Link-Tank nehmen und die Objektträger sofort in einen Behälter/Tank (z. B. PT Link Rinse Station (Code-Nr. PT109)) mit verdünntem, auf Raumtemperatur gebrachttem EnVision FLEX Wash Buffer (20x) (Code-Nr. K8007) tauchen. Die Objektträger 1-5 Minuten lang im Waschpuffer belassen. Während der Gewebepvorbereitung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glas-Objektträgern werden FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen. Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und unter Verwendung eines permanenten Eindeckmediums auf Objektträger eingedeckt werden.
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. <u>Verdünnung:</u> Die empfohlene Verdünnung von Monoclonal Mouse Anti-Human Synaptophysin, Clone DAK-SYNAP, Code-Nr. M7315, ist 1:50. Den Antikörper in Dako Antibody Diluent (Code-Nr. S0809) verdünnen. Die vorbehandelten Gewebeschnitte 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. <u>Negativkontrolle:</u> Als Negativkontrollreagenz wird Dako Negative Control, Mouse IgG1 (Code-Nr. X0931) empfohlen, das auf dieselbe IgG-Konzentration wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Es wird empfohlen, Antikörper und Negativkontrolle unmittelbar vor deren Verwendung zu verdünnen, außer wenn deren Stabilität im aktuellen Färbeverfahren festgelegt ist. Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit wie die Patientengewebe getestet werden. <u>Detektionssystem:</u> Beim empfohlenen Detektionssystem handelt es sich um EnVision FLEX, High pH (Code-Nr. K8000/K8010), das bei einer Inkubation von 20 Minuten bei Raumtemperatur eingesetzt wird. Das dem gewählten Detektionssystem beiliegende Verfahren befolgen.

Automatisierung: Der Antikörper eignet sich sehr gut für immunhistochemische Färbungen mit automatisierten Systemen, z. B. mit Dako Autostainer, Autostainer Plus und Autostainer Link sowie PT Link für die Vorbehandlung.

Gegenfärbung: Die empfohlene Gegenfärbung ist EnVision FLEX Hematoxylin (Code-Nr. K8008/K8018).

Qualitätskontrolle: Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden. Das Positivkontrollgewebe sollte Dickdarmgewebe enthalten, und die Zellen/Strukturen sollten die für dieses Gewebe im Abschnitt „Leistungseigenschaften“ beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen.

Auswertung der Färbung

Das zelluläre Färbemuster ist zytoplasmatisch.

Leistungseigenschaften

Normalgewebe: Im Dickdarm zeigen die Axone der Nerven in der Tunica muscularis und in der Lamina propria eine mäßige bis starke Färbereaktion, während die neuroendokrinen Zellen der Epitheloberfläche eine schwache bis mäßige Färbereaktion zeigen. Gelegentlich kann eine zytoplasmatische Markierung von Becherzellen im Dickdarm und Dünndarm beobachtet werden.

Übersicht über die Reaktivität in normalem Gewebe (1)

Gewebetyp (Anz. getestet)	Markierte Gewebe-Elemente	Gewebetyp (Anz. getestet)	Markierte Gewebe-Elemente
Brust (3)	0/3	Mandeln (3)	0/3
Dickdarm (3)	3/3 Ganglienzellen und neuroendokrinen Zellen (100%), zytoplasmatisch	Milz (3)	0/3
Dünndarm (3)	3/3 neuroendokrinen Zellen (100%), zytoplasmatisch	Nebenniere (3)	3/3 Nebennierenzellen (10-25%), zytoplasmatisch
Eileiter (3)	0/3	Nerv, peripher (3)	3/3 Ganglienzellen (10-100%), zytoplasmatisch
Endometrium (3)	0/3	Niere (3)	0/3
Großhirn (3)	3/3 Ganglienzellen und Nervenzellen (100%), zytoplasmatisch	Ösophagus (3)	3/3 Ganglienzellen (100%), zytoplasmatisch 3/3 Fibroblasten (50%), zytoplasmatisch
Harnblase (3)	0/3	Ovar (3)	1/3 Ganglienzellen und Stromazellen (10%), zytoplasmatisch
Harnleiter (3)	3/3 Stromazellen (5-10%), zytoplasmatisch	Pankreas (3)	3/3 Inselzellen und Ganglienzellen (100%), zytoplasmatisch
Haut (3)	2/3 Basalmembranzellen (50%), diffus	Plazenta (3)	0/3
Herzmuskel (3)	3/3 Fibroblasten (20%), zytoplasmatisch	Prostata (3)	1/3 Stromazellen (50%), zytoplasmatisch
Hypophyse (3)	2/3 Hypophysenzellen (100%), zytoplasmatisch	Rückenmark (3)	3/3 Ganglienzellen (100%), zytoplasmatisch
Kleinhirn (2)	2/2 Ganglienzellen und Nervenzellen (100%), zytoplasmatisch	Skelettmuskulatur (3)	0/3
Knochenmark (3)	0/3	Speicheldrüse (3)	3/3 Nervenzellen (100%), zytoplasmatisch
Leber (3)	0/3	Testis (3)	0/3
Lunge (3)	0/3	Thyreoidea (3)	0/3
Lymphknoten (3)	0/3	Uterus (3)	0/3
Magen (3)	3/3 neuroendokrinen Zellen (100%), zytoplasmatisch	Zervix (3)	2/3 Ganglienzellen (50%), zytoplasmatisch

Anormales Gewebe: Der Antikörper markierte 4/4 kleinzelligen Lungenkarzinomen, 2/6 großzelligen Lungenkarzinomen, 2/2 atypischen Lungenkarzinoiden, 3/3 Kolonkarzinoiden, 5/5 Dünndarmkarzinoiden, 1/1 neuroendokrinen Pankreasneoplasien, 1/1 Ganglioneuromen, 3/3 medullären Schilddrüsenkarzinomen, 2/3 Lungen-Adenokarzinomen, 1/2 undifferenzierten Lungen-Adenokarzinomen, 2/4 Dickdarm-Adenokarzinomen, 1/4 Dünndarm-Adenokarzinomen, 1/2 Pankreas-Adenokarzinomen und 0/3 papillären Schilddrüsenkarzinomen (2).

References/ Bibliographie/ Literaturnachweise

- Dako in-house documentation D13338
- Dako in-house documentation D14505
- Wiedenmann B, Franke WW. Identification and localization of synaptophysin, an integral membrane glycoprotein of Mr 38,000 characteristic of presynaptic vesicles. Cell 1985;40:1017-28.
- Kwon SE, Chapman ER. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons. Neuron 2011; 70:847-85.
- Wiedenmann, B, Franke WW, Kuhn C, Moll R, Gould VE. Synaptophysin: a marker protein for neuroendocrine cells and neoplasms. Proc Natl Acad Sci U S A, 1986;83:3500-4.
- Gould VE, Wiedenmann B, Inchal L, Schwachheimer K, Dockhorn-Dvorniczak B, Radosevich B, et al. Synaptophysin expression in neuroendocrine neoplasms as determined by immunocytochemistry. Am J Pathol 1987;126:243-57
- Takei H, Asamura H, Maeshima A, Suzuki K, Kondo H, Niki T, et al. Large cell neuroendocrine carcinoma of the lung: a clinicopathologic study of eighty-seven cases. J Thorac Cardiovasc Surg 2002;124:285-92.
- Sorhaug S, Steinshamn S, Haaverstad R, Nordrum IS, Martinsen TC, Waldum HL. Expression of neuroendocrine markers in non-small cell lung cancer. APMIS 2007;115:152-63.
- Park SJ, Park CJ, Kim S, Jang S, Chi HS, Kim MJ, et al. Detection of bone marrow metastases of neuroblastoma with immunohistochemical staining of CD56, chromogranin A, and synaptophysin. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2010;18:348-52.
- Li Q, Johansson H, Kjellmann M, Grimelius L. Neuroendocrine differentiation and nerves in human adrenal cortex and cortical lesions. APMIS 1998;106:807-17.
- Komminoth P, Roth J, Schroder S, Saremaslani P, Heitz P. Overlapping expression of immunohistochemical markers and synaptophysin mRNA in pheochromocytomas and adrenocortical carcinomas. Implications for the differential diagnosis of adrenal gland tumors. Lab Invest 1995;72:424-31.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

REF	Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	2°C - 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Use by Utiliser avant Verwendbar bis
IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	EC REP	Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft		



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com