

Monoclonal Mouse Anti-Human CD19/APC, Clone HD37
Monoclonal Mouse Anti-Human CD19/FITC, Clone HD37
Monoclonal Mouse Anti-Human CD19/RPE, Clone HD37
Monoclonal Mouse Anti-Human CD19/RPE-Cy5, Clone HD37
Monoclonal Mouse Anti-Human CD19/PerCP-Cy5.5, Clone HD37

Code C7224
Code F0768
Code R0808
Code C7066
Code PR703

ENGLISH

Intended use	For in vitro diagnostic use. C7224, F0768, R0808, C7066 and PR703 are intended for use in flow cytometry. CD19 is the broadest lineage-specific surface marker for B cells and it is present on the surface of virtually all B lymphocytes, including early B progenitor cells (1). CD19 expression is maintained in B-lineage cells that have undergone neoplastic transformation (2). Antibodies to CD19 are considered essential for the initial evaluation of acute and chronic lymphoproliferative disorders (3). Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.																										
Summary and explanation	CD19 is a 120 kDa transmembrane glycoprotein with a reduced Mr of 95 000 (2, 4). CD19 is a member of the immunoglobulin superfamily with two extracellular C2-type domains (2), and it is a critical signal transduction molecule that regulates B lymphocyte development, activation, and differentiation (4). CD19 expression is restricted to normal and neoplastic B cells, being absent from T cells, monocytes, and granulocytes (2). The CD19 antigen appears early during B cell maturation, probably at late pro-B cell stage around the time of Ig heavy chain rearrangement. It then persists during all stages of B cell maturation and is lost upon terminal differentiation to plasma cells (2). The advantage of immunodetection of CD19 expression is that B lineage leukemias and lymphomas rarely lose the epitope (5). Expression of CD19 in some acute myelocytic leukemia cells has been described (2).																										
Reagent provided	The Anti-CD19 conjugates, C7224, F0768, R0808, C7066 and PR703 have been produced from a purified monoclonal mouse antibody. The conjugates are provided in liquid form in buffer containing 1% bovine serum albumin (BSA) and 15 mmol/L NaN ₃ , pH 7.2. Each vial contains conjugate for 100 tests of up to 10 ⁶ leucocytes from normal human peripheral blood. See table 1 for volume of conjugate per test. Isotype: IgG1, kappa. Conjugate concentration: See label on vial.																										
Table 1																											
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Antibody Dako Code</th><th>Fluorochrome</th><th>Volume of conjugate per test</th><th>Isotype Reagent Dako Code</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>F0768</td><td>FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)</td><td>10 µL</td><td>X0927</td></tr> <tr> <td>R0808</td><td>RPE (R-Phycoerythrin)</td><td>10 µL</td><td>X0928</td></tr> <tr> <td>C7066</td><td>RPE-Cy5 (R-Phycoerythrin-Cyanine 5)</td><td>10 µL</td><td>X0955</td></tr> <tr> <td>C7224</td><td>APC (Allophycocyanin)</td><td>10 µL</td><td>X0968</td></tr> <tr> <td>PR703</td><td>PerCP-Cy5.5 (peridinin chlorophyll protein-Cyanine 5.5)</td><td>5 µL</td><td>No Dako Code*</td></tr> </tbody> </table>				Antibody Dako Code	Fluorochrome	Volume of conjugate per test	Isotype Reagent Dako Code	F0768	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	10 µL	X0927	R0808	RPE (R-Phycoerythrin)	10 µL	X0928	C7066	RPE-Cy5 (R-Phycoerythrin-Cyanine 5)	10 µL	X0955	C7224	APC (Allophycocyanin)	10 µL	X0968	PR703	PerCP-Cy5.5 (peridinin chlorophyll protein-Cyanine 5.5)	5 µL	No Dako Code*
Antibody Dako Code	Fluorochrome	Volume of conjugate per test	Isotype Reagent Dako Code																								
F0768	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	10 µL	X0927																								
R0808	RPE (R-Phycoerythrin)	10 µL	X0928																								
C7066	RPE-Cy5 (R-Phycoerythrin-Cyanine 5)	10 µL	X0955																								
C7224	APC (Allophycocyanin)	10 µL	X0968																								
PR703	PerCP-Cy5.5 (peridinin chlorophyll protein-Cyanine 5.5)	5 µL	No Dako Code*																								
*It is recommended to use a non-reactive monoclonal antibody of the same isotype and conjugated to PerCP-Cy5.5																											
Immunogen	Hairy cell leukemia cells (6).																										
Specificity	Anti-CD19, HD37, was included in the Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD19 (7, 8). Anti-CD19, HD37, labels human B cells in peripheral blood, bone marrow and other tissues. Additionally, B-cell lymphoproliferative disorders gave positive reactions with the antibody, i.e. acute lymphoblastic leukemia, chronic lymphocytic leukemia, hairy cell leukemia, lymphoblastic lymphoma (Burkitt type), centroblastic/centrocytic lymphoma, and diffuse non-Hodgkin's lymphoma. The antibody was shown to be unreactive with other cells in the human hematopoietic system and did not react with non-hematopoietic cells, e.g. in kidney, liver, breast or lung tissues (8). Anti-CD19, HD37, inhibits anti-Ig-induced B-cell activation and proliferation (1).																										
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	Store in the dark 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.																										
Staining procedure	<ol style="list-style-type: none"> 1. Collect venous blood into a test tube containing an anticoagulant. 2. Isolate mononuclear cells by centrifugation on a separation medium. Alternatively, lyse the red cells after step 6. 3. Wash the mononuclear cells twice with RPMI 1640 or PBS, pH 7.2-7.4. 4. Mix 100 µL cell suspension with the volume of fluorochrome-conjugated Anti-CD19 stated in table 1. 5. Use a non-reactive monoclonal antibody of the same isotype, and conjugated with the same fluorochrome, as a negative control (see table). 6. Incubate in the dark at 4 °C for 30 minutes. 7. Wash twice with PBS containing 2% BSA. Resuspend the cells in an appropriate fluid for flow cytometry, e.g. 0.3 mL 1% paraformaldehyde (fixative) in 0.01 mol/L PBS, pH 7.4. 8. Analyse on a flow cytometer. <p>It is recommended to include a suitable positive and negative control sample with each run for reagent and preparation control. Note that fluorochrome conjugates are light sensitive, and samples should be protected from light during the staining procedure and until the analysis.</p>																										

Product-specific limitations	It has been observed that RPE-Cy5-conjugates and PerCP-Cy5.5-conjugates may bind to monocytes, resulting in background staining (9, 10).
-------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

FRANÇAIS

Utilisation prévue	Pour une utilisation diagnostique in vitro. C7224, F0768, R0808, C7066 et PR703 sont destinés à être utilisés en cytométrie de flux. Le CD19 est le plus large marqueur de surface spécifique à la lignée lymphocytaire B ; il est présent à la surface de quasiment tous les lymphocytes B, y compris des cellules progénitrices B précoces (1). L'expression du CD19 est maintenue dans les cellules de la lignée B ayant subi une transformation néoplasique (2). Les anticorps dirigés contre le CD19 sont considérés comme essentiels pour l'évaluation initiale des maladies lymphoprolifératives aiguës et chroniques (3). Les résultats doivent être interprétés par un professionnel qualifié et tenir compte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques.																								
Résumé et explication	Le CD19 est une glycoprotéine transmembranaire de 120 kDa comprenant un monomère réduit de 95 000 (2, 4). Le CD19 fait partie de la superfamille des immunoglobulines à deux domaines extracellulaires de type C2 (2). C'est une molécule essentielle à la transduction du signal qui régule le développement, l'activation et la différenciation des lymphocytes B (4). L'expression du CD19 est limitée aux lymphocytes B sains et néoplasiques et est absente des lymphocytes T, des monocytes et des granulocytes (2). L'antigène CD19 apparaît précocement au cours de la maturation des lymphocytes B, probablement au stade tardif des cellules pro-B, à peu près au moment de la réorganisation des chaînes lourdes des immunoglobulines. Elle persiste ensuite au cours des stades de maturation des lymphocytes B puis est perdue une fois la différenciation en plasmocytes terminée (2). L'avantage de l'immunodétection de l'expression du CD19 repose sur le fait que les leucémies et lymphomes de la lignée B perdent rarement cet épitope (5). L'expression du CD19 a été décrite dans certains cas de leucémies myélocytaires aiguës (2).																								
Réactifs fournis	Les conjugués anti-CD19, C7224, F0768, R0808, C7066 et PR703 ont été préparés à partir d'un anticorps monoclonal de souris purifié. Les conjugués sont fournis sous forme liquide dans un tampon contenant 1% d'albumine de sérum bovin (BSA) et 15 mmol/l d'azide de sodium (NaN_3) d'un pH de 7,2. Chaque flacon contient du conjugué pour 100 tests de 10^6 leucocytes au maximum à partir de sang périphérique humain sain. Voir le tableau 1 pour le volume de conjugué par test. <u>Isotype</u> : IgG1, kappa. <u>Concentration des conjugués</u> : Voir l'étiquette sur le flacon.																								
Tableau 1	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Réf. d'anticorps Dako</th> <th>Fluorochrome</th> <th>Volume de conjugué par test</th> <th>Réf. de réactif d'isotype Dako</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>F0768</td> <td>FITC (Isomère 1 de l'isothiocyanate de fluorescéine)</td> <td>10 µL</td> <td>X0927</td> </tr> <tr> <td>R0808</td> <td>RPE (R-Phycocérythrine)</td> <td>10 µL</td> <td>X0928</td> </tr> <tr> <td>C7066</td> <td>RPE-Cy5 (phycoérythrine R-cyanine 5)</td> <td>10 µL</td> <td>X0955</td> </tr> <tr> <td>C7224</td> <td>APC (allophycocyanine)</td> <td>10 µL</td> <td>X0968</td> </tr> <tr> <td>PR703</td> <td>PerCP-Cy5.5 (péridinine chlorophylle protéine-cyanine 5.5)</td> <td>5 µL</td> <td>Aucune réf. Dako*</td> </tr> </tbody> </table>	Réf. d'anticorps Dako	Fluorochrome	Volume de conjugué par test	Réf. de réactif d'isotype Dako	F0768	FITC (Isomère 1 de l'isothiocyanate de fluorescéine)	10 µL	X0927	R0808	RPE (R-Phycocérythrine)	10 µL	X0928	C7066	RPE-Cy5 (phycoérythrine R-cyanine 5)	10 µL	X0955	C7224	APC (allophycocyanine)	10 µL	X0968	PR703	PerCP-Cy5.5 (péridinine chlorophylle protéine-cyanine 5.5)	5 µL	Aucune réf. Dako*
Réf. d'anticorps Dako	Fluorochrome	Volume de conjugué par test	Réf. de réactif d'isotype Dako																						
F0768	FITC (Isomère 1 de l'isothiocyanate de fluorescéine)	10 µL	X0927																						
R0808	RPE (R-Phycocérythrine)	10 µL	X0928																						
C7066	RPE-Cy5 (phycoérythrine R-cyanine 5)	10 µL	X0955																						
C7224	APC (allophycocyanine)	10 µL	X0968																						
PR703	PerCP-Cy5.5 (péridinine chlorophylle protéine-cyanine 5.5)	5 µL	Aucune réf. Dako*																						

* Il est recommandé d'utiliser un anticorps monoclonal non réactif du même isotype et conjugué à la PerCP-Cy5.5

Immunogène

Cellules de leucémie à cellules chevelues (6).

Spécificité

L'anticorps anti-CD19, HD37, a été inclus lors des Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Seconde, Troisième, Quatrième et Cinquième Conférences et Ateliers Internationaux sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains (HLDA)). Des études réalisées par plusieurs laboratoires ont confirmé sa réactivité au CD19 (7, 8).

L'anticorps anti-CD19, HD37 marque les lymphocytes B humains dans le sang périphérique, la moelle osseuse et d'autres tissus. De plus, les maladies lymphoprolifératives à lymphocytes B ont présenté une réaction positive à l'anticorps, notamment les leucémies lymphoblastiques aiguës, les leucémies lymphocytaires chroniques, les leucémies à cellules chevelues, les lymphomes lymphoblastiques (de Burkitt), les lymphomes centroblastiques/centrocytiques, ainsi que les lymphomes non hodgkiniens diffus. Aucune réactivité de l'anticorps n'a été observée avec d'autres cellules du système hématopoïétique humaine, ni avec les cellules non hématopoïétiques, par ex. dans les tissus du rein, du foie, du sein ou du poumon (8). L'anti-CD19, HD37, inhibe l'activation et la prolifération de cellules B induites par des immunoglobulines (1).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), produit chimique hautement毒ique dans sa forme pure. 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, 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 solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.

Conservation

Conserver dans l'obscurité 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.

Procédure de coloration

1. Prélever le sang veineux dans un tube à essai contenant un anticoagulant.
2. Isoler les cellules mononucléées par centrifugation sur un support séparé. Il est aussi possible de lyser les globules rouges après l'étape 6.
3. Laver les cellules mononucléées à l'aide de RPMI 1640 ou d'une solution saline de tampon phosphate (PBS), d'un pH de 7,2-7,4.
4. Mélanger 100 µL de suspension de cellules avec le volume d'anti-CD19 conjugué à du fluorochrome comme indiqué dans le tableau 1.
5. Utiliser un anticorps monoclonal non réactif de même isotype et conjugué avec le même fluorochrome comme contrôle négatif (voir le tableau).
6. Incuber dans l'obscurité à 4 °C pendant 30 minutes.
7. Laver deux fois à l'aide d'une solution PBS contenant 2% d'albumine sérique bovine (BSA). Remettre les cellules en suspension dans un liquide approprié pour la cytométrie en flux ; ex. : 0,3 ml à 1% de paraformaldéhyde (fixateur) dans 0,01 mol/l de PBS, d'un pH de 7,4.
8. Analyser à l'aide d'un cytomètre en flux.

Il est recommandé d'inclure un échantillon de contrôle positif et négatif approprié avec chaque cycle en tant que contrôle de réactif et de préparation. Noter que les conjugués fluorochromes sont photosensibles. Les échantillons doivent être protégés de la lumière pendant la procédure de coloration et jusqu'à l'analyse.

Limitations spécifiques du produit

On a constaté que des conjugués à la RPE-Cy5 et des conjugués à la PerP-Cy5.5 peuvent se lier à des monocytes, entraînant une coloration de bruit de fond (9, 10).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

C7224, F0768, R0808, C7066 und PR703 sind zur Verwendung in der Durchflusszytometrie bestimmt. CD19 ist der umfassendste abstammungsspezifische Oberflächenmarker für B-Zellen, der auf nahezu allen B-Lymphozyten einschließlich früher B-Vorläuferzellen vorkommt (1). In B-Zellen, die eine neoplastische Transformation durchlaufen haben, bleibt die CD19 Expression erhalten (2). Antikörper gegen CD19 gelten als wichtig bei der Erstuntersuchung akuter und chronischer lymphoproliferativer Erkrankungen (3). Die Ergebnisse müssen von einem qualifizierten Experten unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten ausgewertet werden

Zusammenfassung und Erklärung

CD19 ist ein transmembranes Glykoprotein von 120 kDa mit einem reduzierten Mr von 95,000 (2, 4). CD19 ist ein Mitglied der Immunoglobulin-Superfamilie mit zwei extrazellulären Domänen des Typs C2 (2) und es ist ein kritisches Signalübertragungsmolekül, das die Entwicklung, Aktivierung und Differenzierung von B-Lymphozyten reguliert (4). Die CD19-Expression ist auf normale und neoplastische B-Zellen beschränkt, wobei sie in T-Zellen, Monozyten und Granulozyten nicht vorkommt (2). Das CD19-Antigen erscheint früh während der B-Zellen-Reifung, wahrscheinlich in einer späten Pro-B-Zellen-Phase etwa um den Zeitpunkt der Ig-Schwerketten-Umlagerung. Anschließend ist es in allen Phasen der B-Zellen-Reifung vorhanden und geht bei der terminalen Differenzierung in Plasmazellen verloren (2). Der Vorteil der Immundetektion der CD19-Expression ist, dass B-Zellen-Leukämien und Lymphome das Epitop selten verlieren (3). Die Expression von CD19 in einigen Zellen der akuten myelozytischen Leukämie wurde bereits beschrieben (2).

Geliefertes Reagenz

Die Anti-CD19-Konjugate C7224, F0768, R0808, C7066 und PR703 wurden aus einem gereinigten monoklonalen Mausantikörper hergestellt. Sie werden in flüssiger Form in einem Puffer mit 1% Rinderserum-Albumin (BSA) und 15 mmol/L Na₃, pH 7.2 geliefert. Jeder Behälter enthält Konjugat für 100 Tests für bis zu 10⁶ Leukozyten aus normalem humanem peripherem Blut. Die Konjugatmenge pro Test ist Tabelle 1 zu entnehmen.

Isotyp: IgG1, kappa. Konjugatkonzentration: Siehe Behälteretikett.

Tabelle 1.

Antikörper – Dako Code-Nr.	Fluorochrom	Konjugatmenge pro Test	Isotyp-Reagenz – Dako Code-Nr.
F0768	FITC (Fluoreszein-Isothiozyanat-Isomer 1)	10 µL	X0927
R0808	RPE (R-Phycoerythrin)	10 µL	X0928
C7066	RPE-Cy5 (R-Phycoerythrin-Zyanin 5)	10 µL	X0955
C7224	APC (Allophycocyanin)	10 µL	X0968
PR703	PerCP-Cy5.5 (Peridinin-Chlorophyll-Protein-Zyanin 5.5)	5 µL	Keine Dako Code-Nr.*

*Es wird empfohlen, einen nicht reaktiven monoklonalen Antikörper desselben Isotyps zu verwenden, der mit PerCP-Cy5.5 konjugiert wurde

Immunogen

Zellen der Haarzellenleukämie (6).

Spezifität

Anti-CD19, HD37 wurde bei den Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (2., 3., 4. und 5. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten differenzierende Antigene) untersucht, und seine Reaktivität mit CD19 wurde in Studien einer Reihe von Labors bestätigt (7, 8).

Anti-CD19, HD37 markiert humane B-Zellen in peripherem Blut, Knochenmark und anderen Geweben. Außerdem zeigten lymphoproliferative Erkrankungen der B-Zellen mit dem Antikörper positive Reaktionen, z. B. bei akuter lymphoblastischer bzw. chronisch lymphatischer Leukämie, Haarzellenleukämie, beim lymphoblastischen (Typ Burkitt) und Zentroblasten-/Zentrozyten-Lymphom sowie beim diffusen Non-Hodgkin-Lymphom. Es wurde nachgewiesen, dass der Antikörper keine Reaktivität mit anderen Zellen im humanen hämatopoietischen System zeigt und nicht mit nicht-hämatopoietischen Zellen, z. B. in Nieren-, Leber-, Brust- oder Lungengewebe, reagiert (8). Anti-Cd19, HD37, hemmt die Anti-Ig-induzierte B-Zell-Aktivierung und Proliferation (1).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (Na₃), 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 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 Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2-8 °C im Dunkeln 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, 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.

Färbeverfahren

1. Venöses Blut entnehmen und in ein mit Antikoagulans beschichtetes Teströhrchen abfüllen.
2. Mononukleare Zellen durch Zentrifugieren auf einem Trennmedium isolieren. Alternativ die roten Blutkörperchen nach Schritt 6 lysieren.
3. Die mononuklearen Zellen zweimal mit RPMI 1640 oder PBS, pH 7.2-7.4, waschen.
4. 100 µL Zellsuspension mit der in Tabelle 1 angegebenen Menge an Fluorochrom-konjugiertem Anti-CD19 mischen.
5. Einen nicht-reaktiven monoklonalen Antikörper desselben Isotyps, der auch mit demselben Fluorochrom konjugiert wurde, als Negativkontrolle verwenden (siehe Tabelle).
6. Im Dunkeln bei 4 °C 30 Minuten inkubieren.

7. Zweimal mit PBS mit 2% BSA waschen. Zellen in einer geeigneten Flüssigkeit, z. B. 0.3 mL 1% Paraformaldehyd (Fixiermittel) in 0.01 mol/L PBS, pH 7.4, für die Durchflusszytometrie resuspendieren.
 8. Auf einem Durchflusszytometer analysieren.
- Es wird empfohlen, als Kontrolle für das Reagenz und das Präparat bei jedem Testdurchlauf eine geeignete Positiv- und Negativkontrollprobe mitlaufen zu lassen. Bitte beachten, dass Fluorochrom-Konjugate lichtempfindlich sind und die Proben während des Färbeverfahrens und bis zur Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

Produktspezifische Beschränkungen

Es wurde eine mögliche Bindung von RPE-Cy5-Konjugaten und PerCP-Cy5.5-Konjugaten an Monozyten, die zu einer Hintergrundfärbung führen kann, beschrieben (9, 10).

References/ Références/ Literatur

1. Pezzutto A, Dörken B, Rabinovitch PS, Ledbetter JA, Moldenhauer G, Clark EA. CD19 monoclonal antibody HD37 inhibits anti-immunoglobulin-induced B cell activation and proliferation. *J Immunol* 1987;138:2793-9.
2. Sato S, Tedder TF. BC3. CD19 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 6th International Workshop and Conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 133-5.
3. Braylan RC, Orfao A, Borowitz MJ, Davis BH. Optimal number of reagents required to evaluate hematolymphoid neoplasias: results of an international consensus meeting. *Cytometry* 2001;46:23-7.
4. Sato S, Tedder TF. CD guide. CD19. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 6th International Workshop and Conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 764-5.
5. Leong AS-Y, Cooper K, Leong FJW-M. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Oxford University Press; 1999. p. 67-8.
6. Pezzutto A, Dörken B, Feller A, Moldenhauer G, Schwartz R, Wernet P, et al. HD37 monoclonal antibody: a useful reagent for further characterization of "non-T, non-B" lymphoid malignancies. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, editors. Leukocyte typing II. Proceedings of the 2nd International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens; 1984 Sept 17-20; Boston, USA. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag; 1986. Volume 2. p. 391-402.
7. Nadler LM. B cell/leukemia panel workshop: summary and comments. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, editors. Leukocyte typing II. Proceedings of the 2nd International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens; 1984 Sept 17-20; Boston, USA. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag; 1986. Volume 2. p. 3-43.
8. Mason DY, Ladyman H, Gatter KC. Immunohistochemical analysis of monoclonal anti-B cell antibodies. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, editors. Leukocyte typing II. Proceedings of the 2nd International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens; 1984 Sept 17-20; Boston, USA. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag; 1986. Volume 2. p. 245-55.
9. van Vugt MJ, van den Herik-Oudijk IE, van de Winkel JGJ. Binding of PE-CY5 conjugates to the human high-affinity receptor for IgG (CD64). *Blood* 1996;88:2358-61.
10. Shapiro HM. Practical Flow Cytometry, John Wiley and Sons Inc.; 2003. 4th ed. p. 337.

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		Keep away from sunlight (consult storage section) Conserver à l'abri de la lumière (voir la section Conservation) Vor Sonnenlicht schützen (siehe Abschnitt Aufbewahrung)		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung		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

Revision / Révision / Revision 2020.11