

## Monoclonal Mouse Anti-Human Myeloperoxidase, Clone MPO-7

Code No./ Code/ Code-Nr. **C 7246**      **APC-Conjugated**  
 Code No./ Code/ Code-Nr. **F 0714**      **FITC-Conjugated**  
 Code No./ Code/ Code-Nr. **R 7209**      **RPE-Conjugated**

### ENGLISH

**Intended use** For in vitro diagnostic use.  
 C 7246, F 0714 and R 7209 are intended for use in flow cytometry. Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.

**Introduction** Human myeloperoxidase (MPO) is a 150 kDa tetrameric polypeptide consisting of 2 covalently linked subunits of approximately 59 kDa and 2 subunits of approximately 13 kDa. MPO is a lysosomal enzyme present abundantly in the azurophilic granules of neutrophils and at lower concentration in the granules of monocytes. MPO is involved in the microbicidal action of these cells (1).

**Reagent provided** The Anti-MPO conjugates, C 7246, F 0714 and R 7209, 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<sub>3</sub>, pH 7.2. Each vial contains 100 tests (10 µL of conjugate for up to 10<sup>6</sup> leucocytes from normal human peripheral blood).  
Isotype: IgG1, kappa. Conjugate concentration mg/L: See label on vial.

Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.
F 0714	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927
R 7209	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928
C 7246	APC (Allophycocyanin)	X 0968

**Immunogen** Human MPO isolated from CML cells (2).

**Specificity** Anti-MPO, MPO-7, strongly labels the cytoplasm of neutrophil granulocytes in peripheral blood. Monocytes are weakly positive while lymphocytes are unreactive. In bone marrow, cells of the granulocyte series are labelled. Anti-MPO, MPO-7, also labels the human promyelocyte cell line HL-60, while other myeloid cell lines such as K-562 and KG-1 are consistently unreactive (3). In acute myeloid leukaemia, anti-MPO, MPO-7, is a useful reagent (4) since it labels a large proportion of cases (3, 5).

**Precautions**

- For professional users.
- This product contains sodium azide (NaN<sub>3</sub>), 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.
- As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.

**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 our Technical Services.

**Staining procedure**

- Transfer 50 µL (up to 10<sup>6</sup> cells) of the cell suspension to be analysed (whole blood, bone marrow or mononuclear cells) to a test tube.
- Add 100 µL DakoCytomation IntraStain Reagent A (Fixation), code No. K 2311. Mix gently by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension.
- Incubate at room temperature for 15 minutes.
- Add 2 mL PBS and mix gently by using a vortex mixer.
- Centrifuge at 300 x g for 5 minutes, then aspirate the supernatant, leaving approximately 50 µL of fluid.
- Mix thoroughly by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension and add 100 µL DakoCytomation IntraStain Reagent B (Permeabilization), code No. K 2311. Add 10 µL of the anti-MPO conjugate. Mix gently by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension.
- Use a non-reactive monoclonal antibody of the same isotype, and conjugated with the same fluorochrome, as a negative control (see table).
- Incubate in the dark at room temperature for 15 minutes.
- Repeat steps 4 and 5.
- Resuspend the pellet in an appropriate fluid for flow cytometric analysis, e.g. 0,3 mL 1% paraformaldehyde (fixative) in 0,01 mol/L PBS, pH 7,4.
- Analyse on a flow cytometer.

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.

### FRANÇAIS

**Intérêt** Pour diagnostic in vitro.  
 C 7246, F 0714 et R 7209 sont destinés pour un usage en cytométrie en flux. L'interprétation des résultats doit être entreprise par un professionnel certifié dans le contexte de l'historique clinique du patient et des autres examens diagnostics.

**Introduction** La myéloperoxydase humaine (MPO) est un polypeptide tétramérique de 150 kDa constitué de 2 sous-unités d'environ 59 kDa et de 2 sous-unités de 13 kDa reliées de façon covalente. La MPO est une enzyme lysosomiale présente en abondance dans les granules azurophiles des neutrophiles et à plus faible concentration dans les granules des monocytes. La MPO est impliquée dans l'activité microbicide de ces cellules (1).

**Réactif fourni** Les conjugués Anti-MPO, C 7246, F 0714 et R 7209, ont été obtenus à partir d'un anticorps monoclonal purifié de souris. Les conjugués sont fournis à l'état liquide dans un tampon contenant 1% d'albumine sérique bovine (BSA) et 15 mmol/L de NaN<sub>3</sub>, à 7,2 de pH. Chaque flacon contient 100 tests (10 µL de conjugué pouvant traiter jusqu'à 10<sup>6</sup> de leucocytes provenant de sang périphérique normal humain).  
Isotype: IgG1, kappa. Concentration du conjugué mg/L: Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.

Code de l'anticorps	Fluorochrome	Code du Contrôle Négatif
F 0714	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927
R 7209	RPE (R-Phycoérythrine)	X 0928
C 7246	APC (Allophycocyanine)	X 0968

**Immunogène** MPO humaine isolée à partir de cellules CML (2).

**Spécificité** Le MPO-7, anti-MPO, marque fortement le cytoplasme des granulocytes neutrophiles dans le sang périphérique. Les monocytes sont faiblement positifs alors que les lymphocytes demeurent non réactifs. Dans la moelle osseuse, les cellules des lignées granulocytaires sont marquées. Le MPO-7, anti-MPO marque également la lignée cellulaire promyélocytaire humaine H-60, alors que d'autres lignées de cellules myéloïdes, comme les lignées K-652 et KG-1, demeurent constamment non réactives (3). Dans les cas de leucémies myéloïdes aiguës, le MPO-7, anti-MPO, est un réactif pratique (4) car il conduit à un marquage dans une grande proportion des cas (3, 5).

**Précautions d'emploi**

- Pour utilisateurs professionnels.
- Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien qu'il ne soit pas classé comme étant nuisible, l'azide de sodium peut réagir avec la tuyauterie en plomb et en cuivre pour former des dépôts hautement explosifs d'azides métallisés. Lors de l'élimination du produit, laisser couler l'eau à flot pour éviter toute accumulation d'azides métallisés dans la tuyauterie.
- Comme pour tout dérivé biologique dangereux à manipuler, une précision s'impose.

**Conservation** Conserver à l'obscurité entre 2° et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption mentionnée sur le flacon. Si les réactifs ont été conservés dans d'autres conditions que celles spécifiées, ces conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles doivent être opérés simultanément avec les échantillons du patient. En cas de résultats imprévus qui ne peuvent pas être expliqués par des changements de procédures de laboratoire et qu'un problème avec le produit est suspecté, contactez nos Services Techniques.

**Procédure d'immunomarquage**

- Transférer 50 µL (jusqu'à 10<sup>6</sup> de cellules) de la suspension cellulaire afin de les analyser (sang total, de la moelle osseuse ou cellules mononucléaires) dans un tube à essai.
- Ajouter 100 µL DakoCytomation IntraStain Reagent A (Fixation), code K 2311. Mélanger délicatement à l'aide d'un mélangeur vortex pour s'assurer que toutes les cellules sont en suspension.
- Incuber à température ambiante pendant 15 minutes.
- Ajouter 2 mL PBS et mélanger soigneusement à l'aide d'un mélangeur vortex.
- Centrifuger à 300xg pendant 5 minutes, puis aspirer le surnageant et conserver environ 50 µL de liquide.
- Bien mélanger à l'aide d'un mélangeur vortex pour s'assurer que les cellules sont en suspension et ajouter 100 µL de DakoCytomation IntraStain Reagent B (Perméabilisation), numéro de code K2311. Ajouter 10 µL de conjugué anti-MPO. Mélanger soigneusement à l'aide d'un mélangeur vortex afin d'assurer que les cellules sont en suspension.
- Utiliser un anticorps monoclonal non-réactif du même isotype, conjugué au même fluorochrome, en tant que contrôle négatif (voir tableau).
- Laisser incuber à l'obscurité, à température ambiante, pendant 15 minutes.
- Recommencer les étapes 4 et 5.
- Remettre le culot cellulaire en suspension dans un liquide adapté à la cytométrie en flux, par exemple 0,3 ml de paraformaldéhyde 1% (fixateur) dans du PBS 0,01 mol/L, à 7,4 de pH.
- Analyser sur un cytomètre en flux.

Il est recommandé d'inclure un échantillon de contrôle positif et négatif adéquat à chacune des exécutions pour le contrôle du réactif et de la préparation. Notez que les conjugués fluorochromes sont sensibles à la lumière, les échantillons doivent donc être protégés de cette dernière au cours de la procédure d'immunomarquage et jusqu'à l'analyse.

Es wird empfohlen, eine geeignete Positiv- und Negativkontrolle für jede Durchführung der Reagenz- und Präparationsprüfung mitzuführen. Es ist zu beachten, dass Fluoreszenzkonjugate lichtempfindlich sind und dass die Proben während des Färbeprozesses und bis zur Durchführung der Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

## DEUTSCH

**Zweckbestimmung** Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.  
C 7246, F 0714 und R 7209 sind für die durchflusszytometrische Anwendung bestimmt. Die Befunde müssen unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren von einem zertifizierten Facharzt interpretiert werden.

**Einleitung** Humane Myeloperoxidase (MPO) ist ein 150 kDa schweres tetrameres Polypeptid, das aus zwei kovalent gebundenen, circa 59 kDa schweren Untereinheiten und zwei circa 13 kDa schweren Untereinheiten besteht. MPO ist ein lysosomales Enzym, das in den azurophilen Granula der Neutrophilen reichlich und in etwas kleineren Konzentrationen in der Granula der Monozyten vorhanden ist. MPO ist an der mikrobiziden Aktion dieser Zellen beteiligt (1).

**Geliefertes Reagenz** Die Anti-MPO-Konjugate C 7246, F 0714 und R 7201 stammen von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper. Die Konjugate werden in einer gepufferten Lösung mit 1 % bovinem Serumalbumin (BSA) und 15 mmol/L NaN<sub>3</sub>, pH 7,2, geliefert. Jedes Fläschchen ist ausreichend für 100 Tests (10 µL des Konjugats sind für bis 10<sup>6</sup> Leukozyten aus normalem, menschlichem peripheren Blut ausreichend).

**Isotyp:** IgG1, **Kappa. Konjugat-Konzentration mg/L:** Siehe Produktetikett.

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F 0714	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X 0927
R 7209	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928
C 7246	APC (Allophycocyanin)	X 0968

**Immunogen** Aus CML-Zellen stammende humane MPO (2).

**Spezifität** Anti-MPO, MPO-7, markiert stark das Zytoplasma der neutrophilen Granulozyten im peripheren Blut. Monozyten sind schwach positiv, während Lymphozyten nicht reaktiv sind. Im Knochenmark werden die Zellen der granulozytären Linie markiert. Anti-MPO, MPO-7, markiert auch die humane Promyelozyten-Zelllinie HL-60, während andere myeloide Zelllinien, wie K-562 und KG-1, konsistent unreaktiv bleiben (3). Bei akuter myeloischer Leukämie ist Anti-MPO, MPO-7, ein nützliches Reagenz (4), weil er den Großteil der Fälle markiert (3, 5).

**Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

- Für geschultes Fachpersonal.
- Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN<sub>3</sub>), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natrium-Azid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metall-Azid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
- Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.

**Lagerung** Im Dunkeln bei 2–8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Produkt angegebenen Verfallsdatum verwenden. Sollten die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt worden sein, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produktes. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Wenn unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit unserem technischen Kundendienst aufzunehmen.









**Färbeprozedur**

- 50 µL (bis 10<sup>6</sup> Zellen) aus der zu untersuchenden Zellsuspension (Vollblut, Knochenmark oder mononukleäre Zellen) in ein Probenröhrchen geben.
- 100 µL DakoCytomation IntraStain Reagent A (Fixation), Code-Nr. K 2311, hinzufügen. Vorsichtig in einem Vortex-Mixer mischen, um sicherzustellen, dass die Zellen suspendiert sind.
- 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
- 2 mL PBS zufügen und vorsichtig im Vortex-Mixer mischen.
- 5 Minuten lang bei 300 x g zentrifugieren, dann den Überstand aspirieren, so dass ungefähr 50 µL zurückbleiben.
- Im Vortex-Mixer gründlich mischen, um sicherzustellen, dass die Zellen suspendiert sind und 100 µL DakoCytomation IntraStain Reagent B (Permeabilization), Code-Nr. K 2311, hinzufügen. 10 µL des Anti-MPO-Konjugats dazugeben. Vorsichtig in einem Vortex-Mixer mischen, um sicherzustellen, dass die Zellen suspendiert sind.
- Als Negativkontrolle einen nicht reaktiven, monoklonalen Antikörper des gleichen Isotyps, konjugiert an dasselbe Fluorochrom, verwenden (s. Tabelle).
- Im Dunkeln bei Raumtemperatur 15 Minuten lang inkubieren.
- Schritte 4 und 5 wiederholen.
- Das Zellpellet in einer für Durchflusszytometrie geeigneten Flüssigkeit, z. B. 0,3 mL 1%igem Paraformaldehyd (Fixativ) in 0,01 mol/L PBS, pH 7,4 resuspendieren.
- Im Durchflusszytometer analysieren.

## References/ Références/ Literatur

- Klebanoff SJ. Myeloperoxidase. Proc Assoc Am Physicians 1999;111:383-89.
- Olsson I, Olofsson T, Odeberg H. Myeloperoxidase-mediated iodination in granulocytes. Scand J Haemat 1972;9:483-91.
- Nakase K, Sartor M, Bradstock K. Detection of myeloperoxidase by flow cytometry in acute leukemia. Cytometry 1998;34:198-202.
- Kappelmayer J, Gratama JW, Karázi É, Menéndez P, Ciudad J, Rivas R, et al. Flow cytometric detection of intracellular myeloperoxidase, CD3 and CD79a. Interaction between monoclonal antibody clones, fluorochromes and sample preparation protocols. J Immunol Methods 2000;242:53-65.
- Lanza F, Latorraca A, Moretti S, Castagnari B, Ferrari L, Castoldi G. Comparative analysis of different permeabilization methods for the flow cytometry measurement of cytoplasmic myeloperoxidase and lysozyme in normal and leukemic cells. Cytometry 1997;30:134-44.

## Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

 Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 2°C – 8°C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Keep away from sunlight (consult storage section) Conserver à l'écart du soleil (se reporter à la section conservation) Lichtgeschützt lagern (siehe Abschnitt zur Lagerung)	 Manufacturer Fabricant Hersteller
 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	