

Monoclonal Mouse Anti-Human CD14, Clone TÜK4

Code No./ Code/ Code-Nr. **F 0844** FITC-Conjugated
Code No./ Code/ Code-Nr. **R 0864** RPE-Conjugated

ENGLISH										
Intended use	For in vitro diagnostic use. F 0844 and R 0864 are intended for use in flow cytometry. Anti-CD14 is important for excluding CD14+ monocytes in relation to T lymphocyte subset analysis (1, 2). In flow cytometry, Anti-CD14 is considered essential for the initial evaluation of acute myeloid leukaemias together with a panel of other antibodies (3). Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.									
Synonym for antigen	LPS receptor, LPS-R and the MO2, My4 and LeuM3 antigen (4, 7).									
Introduction	The mature CD14 molecule, which is a 53-55 kDa membrane protein, is composed of 356 amino acids and is anchored to the cell membrane by linkage to glycosyl phosphatidylinositol (GPI). In addition to the cell surface form, two soluble forms have been described. One soluble form is produced by shedding the cell surface form, which results in an approximately 48 kDa molecule (4-7). A second soluble form is released from cells before addition of the GPI anchor, yielding a higher molecular weight molecule (6). CD14 functions as a receptor for endotoxin (lipopolysaccharide (LPS)) and is the major receptor involved in the lethal response to both endotoxin and Gram-negative bacteria (4, 6). Antibodies against CD14 inhibit LPS-induced tumor necrosis factor alpha (TNF α) production (4, 6). CD14 is expressed strongly on the surface of monocytes and weakly on the surface of granulocytes. Most tissue macrophages and Langerhans' cells also express the antigen (5-7). The CD14 antigen is expressed on leukemic cells of the myelo-monocytic lineage especially AML FAB Type M4, M5a and M5b (3).									
Reagent provided	The Anti-CD14 conjugates, F 0844 and R 0864, 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 Na ₂ S ₂ O ₃ , pH 7.2. Each vial contains 100 tests (10 μ L of conjugate for up to 10 ⁶ leucocytes from normal human peripheral blood). <u>Isotype:</u> IgG2a, kappa. <u>Conjugate concentration mg/L:</u> See label on vial.									
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Antibody Code No.</th> <th>Fluorochrome</th> <th>Negative Control Code No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>F 0844</td> <td>FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)</td> <td>X 0933</td> </tr> <tr> <td>R 0864</td> <td>RPE (R-Phycoerythrin)</td> <td>X 0950</td> </tr> </tbody> </table>	Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.	F 0844	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0933	R 0864	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0950
Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.								
F 0844	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0933								
R 0864	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0950								
Specificity	Anti-CD14, TÜK4, was included in the Fourth, Fifth and Sixth International Workshop and Conference on Leukocyte Cell Differentiation Antigens and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with the CD14 antigen (5-7). Anti-CD14, TÜK4 reacts strongly with peripheral blood monocytes and shows high reactivity to granulocytes. It also reacts with perivascular macrophages. The antibody labels 50% of Langerhans' cells in epidermal cell suspensions and is therefore characterized as weakly reactive (7).									
Precautions	1. For professional users. 2. This product contains sodium azide (NaN ₃), 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. 3. 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	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 μ L cell suspension with 10 μ L fluorochrome-conjugated Anti-CD14. 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.									

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 <i>in vitro</i> . F 0844 et R 0864 sont destinés pour un usage en cytométrie en flux. Anti-CD14 joue un rôle important lors de l'exclusion des monocytes CD14+ en relation avec l'analyse des sous-groupes de lymphocytes T (1, 2). En cytométrie en flux, l'anti-CD14, avec un panel d'autres anticorps, est considéré comme un élément essentiel de l'évaluation initiale des leucémies myéloïdes aiguës (3). 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.									
Synonyme pour l'antigène	Récepteur LPS, LPS-R et antigène MO2 My4 et LeuM3 (4, 7).									
Introduction	La molécule de CD14 mature est une protéine membranaire de 53-55 kDa constituée de 356 acides aminés, elle est fixée à la membrane cellulaire par l'intermédiaire d'une liaison au glycosyl phosphatidylinositol (GPI). Deux formes solubles ont été décrites en plus de la forme présente à la surface des cellules. L'une des formes solubles provient de la libération de la forme fixée à la surface des cellules, ce qui donne une molécule d'environ 48 kDa (4-7). Une seconde forme soluble est libérée depuis les cellules avant l'ancrage GPI, ce qui conduit à une molécule de poids moléculaire plus élevé (6). Le CD14 agit comme un récepteur des endotoxines lipopolysaccharidiques (LPS) et il constitue le principal récepteur impliqué dans la réponse létale aux endotoxines et aux bactéries Gram négatives (4, 6). Les anticorps dirigés contre le CD14 inhibent la production du facteur onconécrosant alpha (TNF α) induite par les LPS (4, 6). Le CD14 est fortement exprimé à la surface des monocytes et faiblement exprimé à la surface des granulocytes. La plupart des macrophages tissulaires et des cellules de Langerhans expriment également l'antigène (5-7). L'antigène CD14 est exprimé à la surface des cellules leucémiques de la lignée myélo-monocytaire et en particulier les fragments Fab AML de type M4, M5a et M5b (3).									
Réactif fourni	Les conjugués Anti-CD14, F 0844 et R 0863, 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 Na ₂ S ₂ O ₃ , à 7,2 de pH. Chaque flacon contient 100 tests (10 μ l de conjugué pouvant traiter jusqu'à 10 ⁶ de leucocytes provenant de sang périphérique normal humain). <u>Isotype:</u> IgG2a, kappa. <u>Concentration du conjugué mg/l:</u> Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.									
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Code de l'anticorps</th> <th>Fluor</th> <th>Code du Contrôle Négatif</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>F 0844</td> <td>FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)</td> <td>X 0933</td> </tr> <tr> <td>R 0864</td> <td>RPE (R-Phycoérythrine)</td> <td>X 0950</td> </tr> </tbody> </table>	Code de l'anticorps	Fluor	Code du Contrôle Négatif	F 0844	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0933	R 0864	RPE (R-Phycoérythrine)	X 0950
Code de l'anticorps	Fluor	Code du Contrôle Négatif								
F 0844	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0933								
R 0864	RPE (R-Phycoérythrine)	X 0950								
Spécificité	TÜK4, anti-CD14, a été intégré au cours des Fourth, Fifth and Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens, et les études réalisées par de nombreux laboratoires ont confirmé sa réactivité vis-à-vis du CD14 (5-7). Le TÜK4, anti-CD14, montre une réaction forte aux monocytes du sang périphérique et présente une réactivité élevée vis-à-vis des granulocytes. Il réagit également avec les macrophages périsvasculaires. L'anticorps marque 50 % des cellules de Langerhans des suspensions de cellules épidermiques et est donc considéré comme faiblement réactif (7).									
Précautions d'emploi	1. Pour utilisateurs professionnels. 2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN ₃), 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. 3. Comme pour tout dérivé biologique dangereux à manipuler, une précision s'impose.									
Stockage	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	1. Prélever le sang veineux dans un tube à essais contenant un anticoagulant. 2. Isoler les cellules mononucléaires par centrifugation dans un milieu de séparation. Sinon, lyser les globules rouges après l'étape 6. 3. Laver les cellules mononucléaires deux fois avec du RPMI 1640 ou du PBS, à 7,2-7,4 de pH. 4. Mélanger 100 μ l de la suspension de cellules avec 10 μ l de conjugué fluorochrome Anti-CD14 5. Utiliser un anticorps monoclonal non-réactif du même isotype, conjugué au même fluorochrome, en tant que contrôle négatif (voir tableau). 6. Laisser incubé à l'obscurité, à 4 °C, pendant 30 minutes. 7. Laver deux fois avec du PBS contenant 2% de BSA. Remettre les cellules en suspension dans un liquide adapté à la cytométrie en flux, par exemple 0,3 ml de paraformaldéhyde (fixateur) dans du PBS 0,01 mol/l, à pH 7,4.									

8. Analyser sur un cytomètre en flux.

Il est recommandé d'inclure un contrôle positif et négatif adéquats à chaque technique pour contrôler le réactif et la préparation. Noter que les conjugués fluorochromes sont sensibles à la lumière, et les échantillons doivent être protégés de cette dernière au cours de la procédure d'immunomarquage et jusqu'à l'analyse.

- Als Negativkontrolle einen nicht reaktiven, monoklonalen Antikörper des gleichen Isotyps, konjugiert an dasselbe Fluorochrom, verwenden (s. Tabelle).
- Im Dunkeln bei 4 °C 30 Minuten lang inkubieren.
- Zweimal mit PBS waschen, das 2 % BSA enthält. Die Zellen 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.

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

DEUTSCH

Zweckbestimmung Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.
F 0844 und R 0864 sind zur Verwendung in der Durchflusszytometrie bestimmt. Anti-CD14 ist relevant für den Ausschluss von CD14+-Monozyten in Beziehung auf die T-Lymphozyten-Untergruppenanalyse (1, 2). In der Durchflusszytometrie wird Anti-CD14, zusammen mit einem Panel weiterer Antikörper, als ausschlaggebend für die initiale Beurteilung der Akuten Myeloischen Leukämien (AML) angesehen (3). Die Befunde müssen unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren von einem zertifizierten Facharzt interpretiert werden.

Synonyme Bezeichnungen des Antigens LPS-Rezeptor-, LPS-R- und MO2-, My4- und LeuM3-Antigen (4, 7).

Einleitung Als 53-55 kDa-Membranprotein setzt sich das reife CD14-Molekül aus 356 Aminosäuren zusammen und ist an der Zellmembran durch Verknüpfung mit Glycosyl-Phosphatidylinositol (GPI) verankert. Zusätzlich zu der auf der Zelloberfläche angetroffenen Form wurden zwei lösliche Formen beschreiben. Eine lösliche Form entsteht durch Abstoßen der an der Oberfläche anhaftenden Form, was in einem Molekül von circa 48 kDa resultiert (4-7). Eine zweite lösliche Form wird von Zellen vor Hinzufügen des GPI-Ankers freigesetzt, was ein Molekül mit höherer relativer Molekülmasse erbringt (6). CD14 erfüllt die Funktion eines Rezeptors für Endotoxin (Lipopolysaccharid, LPS) und ist der hauptsächliche Rezeptor, der an der letalen Reaktion sowohl auf Endotoxin als auch auf gramnegative Bakterien beteiligt ist (4, 6). Antikörper gegen CD14 inhibieren die Produktion des LPS-induzierten Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-α) (4, 6).

CD14 wird stark auf der Oberfläche von Monozyten und schwach auf der Oberfläche der Granulozyten exprimiert. Eine Expression des Antigens erfolgt auch durch die meisten Gewebe-Makrophagen und die Langerhans-Zellen (5-7). Das CD14-Antigen wird auf leukämischen Zellen der myeloisch-monozytären Zelllinie, insbesondere von AML FAB Typ M4, M5a und M5b, exprimiert (3).

Delivered Reagent Die Anti-CD14-Konjugate F 0844 und R 0864 stammen von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper. Die Konjugate werden in einer gepufferten Lösung mit 1 % bovinem Serumalbumin (BSA) und 15 mmol/l Na₂S₂O₃, pH 7,2 geliefert. Jedes Fläschchen ist ausreichend für 100 Tests (10 µl des Konjugats sind für bis 10⁶ Leukozyten aus normalem, menschlichem peripheren Blut ausreichend).

Isotyp: IgG2a, Kappa. **Konjugat-Konzentration mg/l:** Siehe Produktetikett.

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F 0844	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X 0933
R 0864	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0950

Spezifität Anti-CD14, TÜK4, wurde im Kontext der Fourth, Fifth and Sixth International Workshop and Conference on Leukocyte Cell Differentiation Antigens aufgenommen und Studien in einer Reihe von Laboratorien bestätigten seine Reaktivität mit dem CD14-Antigen (5-7).

Anti-CD14, TÜK4, reagiert stark mit Monozyten des peripheren Bluts und zeigt hohe Reaktivität auf Granulozyten. Es reagiert ebenfalls mit perivaskulären Makrophagen. Der Antikörper markiert 50 % der Langerhans-Zellen in Suspensionen von Epidermiszellen und wird folglich als schwach reaktiv charakterisiert (7).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Für geschultes Fachpersonal.
- Dieses Produkt enthält Natrium-Azid (NaN₃), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natrium-Azid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metall-Azid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
- 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. Falls die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt werden, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produktes. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Wenn unerwartete Verfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit unserem technischen Kundendienst aufzunehmen.






Färbeprozedur

- Venöse Blutprobe in ein Probenröhrchen mit gerinnungshemmendem Mittel gewinnen.
- Mononukleäre Zellen durch Zentrifugieren auf einem Abtrennungsmittel isolieren. Alternativ hierzu können die Erythrozyten im Anschluss an Schritt 6 aufgelöst werden.
- Die mononukleären Zellen zweimal mit RPMI 1640 oder mit PBS, pH 7,2-7,4 waschen.
- 100 µl der Zellsuspension mit 10 µl des fluorochromkonjugierten Anti-CD14 mischen.

References/ Références/ Literatur

- Centers for disease control. Guidelines for the performance of CD4+ T-cell determinations in persons with human immunodeficiency virus infection. MMWR 1992;41 (No. RR-8);001. CDC Publication date 05/08/1992.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Document. Clinical applications of flow cytometry: Quality assurance and immunophenotyping of peripheral blood lymphocytes. H42-T 1992;12:1-76.
- van Dongen JJM, Adriaansen HJ. Immunobiology of leukemia. In: Henderson ES, Lister TA, Greaves MF, editors. Leukemia. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: WB Saunders Company; 1996. p. 83-130.
- Turni L, Shaw S, Watson B, Mason D. CD guide. In: Mason D, André P, Bensussan A, Buckley C, Civin C, Clark E, De Haas M, et al, editors. Leucocyte typing VII. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 7th International Workshop and Conference; 2000 June; Harrogate, UK. Oxford, New York: Oxford University Press Inc.; 2002. p. 761-3.
- Goyert SM, Haziot A, Jiao D, Katz IR, Kruger C, Ross J, Schütt C. M4. CD14 cluster workshop report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, Ritz J, et al., editors. Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. Proceedings of the Fifth International Workshop and Conference; Held in Boston, USA 3-7 November 1993. Volume One. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. p. 778-82.
- Goyert SM, Cohen L, Gangloff SC, Ashmun R, Haefner-Cavaillon N. MC4. CD14 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. 963-5.
- Goyert SM, Tesio L, Ashman LK, Ball E, Bazil V, Garrido F, Hogg N, Horejsi V, et al. M3.1. Report on the CD14 cluster workshop. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, von dem Borne AEG, editors. Leucocyte typing IV. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 4th International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens; 1989 Februarv 21-25; Vienna, Austria. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1989. p. 789-94.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser jusque 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'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	LOT Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	