

Monoclonal Mouse
Anti-Human CD30/FITC
 Clone Ber-H2
Code No./ Code/ Code-Nr. F 0849
 Edition/ Ausgabe 01.01.03

ENGLISH							
Intended use	For in vitro diagnostic use. F 0849 is intended for use in flow cytometry. The antibody labels anaplastic large-cell lymphoma (ALCL) and Reed-Sternberg cells, and is a useful tool for the identification of ALCL and as a secondary marker for Hodgkin's disease (1). Differential identification is aided by the results from a panel of antibodies. 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	Ki-1 Antigen (1)						
Introduction	CD30 is a transmembrane cytokine receptor belonging to the tumour necrosis factor (TNF) receptor superfamily. Mature CD30 has a molecular mass of 120 kDa and is derived from a 90 kDa precursor protein (2). The extracellular domain of CD30, is homologous to that of TNF receptor superfamily members, whereas there is no homology in the cytoplasmic domain, suggesting major differences in signalling mechanisms (3). The intracellular part of CD30 possesses kinase activity, indicating that CD30 plays a role in regulating the function, differentiation and/or proliferation of normal lymphoid cells (2). A soluble 85 kDa form of CD30, sCD30, released from the membrane-bound molecule by proteolytic cleavage, can be detected in the sera of patients with CD30-expressing neoplasms (3). CD30 expression is found on Hodgkin and Reed-Sternberg (H-RS) cells, anaplastic large-cell lymphoma cells, and on activated B and T lymphocytes (2, 5, 6).						
Reagent provided	The Anti-CD30 conjugate, F 0849, has been produced from a purified monoclonal mouse antibody. The conjugate is provided in liquid form in buffer containing 1% bovine serum albumin (BSA) and 15 mmol/L NaN ₃ , pH 7.2. Each vial contains 100 tests (10 µL of conjugate for up to 10 ⁶ L540 cells). <u>Isotype:</u> IgG1, 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 0849</td> <td>FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)</td> <td>X 0927</td> </tr> </tbody> </table>	Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.	F 0849	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927
Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.					
F 0849	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927					
Immunogen	Co cells, a Hodgkin cell line (1).						
Specificity	The antibody from the Ber-H2 hybridoma cell line was included in the Fourth International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Vienna 1989) and was found to belong to the CD30 cluster (4). The epitope recognized by anti CD30, Ber-H2, is located extracellularly between amino acid residues 112 and 412 (3). The antibody labels: Cell lines derived from Hodgkin's disease, L428, L540, L591, Co, Ho and KM-H2; HTLV-1 transfected T-cell lines, Hut-102 and MT-2; EBV-transformed B-cell lines (non-Burkitt), B95-8 (monkey), BJA-B and Cess; and the myeloid cell line, K 562 (1). Outside the lympho-haematopoietic system, the anti CD30, Ber-H2, labels embryonal carcinomas and embryonal elements of mixed germ cell tumours (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 µL cell suspension with 10 µL F 0849. 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 each test tube 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 0849 est destiné pour un usage en cytométrie en flux. L'anticorps marque le lymphome à grandes cellules anaplasiques (ALCL) et les cellules de Reed-Sternberg, et est un moyen utile pour l'identification de ALCL et un marqueur secondaire pour la maladie de Hodgkin (1). L'identification différentielle s'appuie sur les résultats obtenus à l'aide d'un panel d'anticorps. 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	Antigène Ki-1 (1)						
Introduction	CD30 est un récepteur transmembranaire de cytokine appartenant à la superfamille de récepteurs cachectine (TNF). Le CD30 mature a une masse moléculaire de 120 kDa et est dérivé d'une protéine précurseur 90 kDa (2). Le domaine extracellulaire de CD30, est homologue à celui des membres de la superfamille de récepteurs TNF, alors qu'il n'existe pas d'homologie dans le domaine cytoplasmique, indiquant des différences majeures dans la transmission des signaux (3). La partie intracellulaire de CD30 possède une activité kinase, indiquant que CD30 joue un rôle de régulateur, de différenciation et/ou de prolifération des cellules lymphoïdes normales (2). Une forme soluble 85 kDa de CD30, sCD30, émise de la molécule liée à la membrane par clivage protéolytique, peut être détectée dans le sérum des patients atteints de néoplasmes exprimant CD30 (3). L'expression CD30 est trouvée sur les cellules de Hodgkin et Reed-Sternberg (H-RS), les cellules du lymphome à grandes cellules anaplasiques, et les lymphocytes activés B et T (2, 5, 6).						
Réactif fourni	Le conjugué Anti-CD30, F 0849, a été produit par un anticorps monoclonal purifié de la souris. Le conjugué est fourni à l'état liquide en tampon contenant 1% d'albumine de sérum bovin (BSA) et du NaN ₃ à 15 mmol/l, pH 7,2. Chaque flacon contient 100 tests (10 µL de conjugué pour un maximum de 10 ⁶ cellules L540). <u>Isotype:</u> IgG1, 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 0849</td> <td>FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)</td> <td>X 0927</td> </tr> </tbody> </table>	Code de l'anticorps	Fluor	Code du Contrôle Négatif	F 0849	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927
Code de l'anticorps	Fluor	Code du Contrôle Négatif					
F 0849	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927					
Immunogène	Cellules Co, une ligne cellulaire de Hodgkin (1).						
Spécificité	L'anticorps de la ligne cellulaire hybridome Ber-H2 était compris au Fourth International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Vienne 1989) et a confirmé son appartenance au groupe CD30 (4). L'épitope reconnu par anti CD30, Ber-H2, est situé extracellulairement entre les résidus d'acides aminés 112 et 412 (3). L'anticorps marque: Les lignes cellulaires dérivées de la maladie de Hodgkin, L428, L540, L591, Co, Ho et KM-H2; les lignes cellulaires T transfectées HTLV-1, Hut-102 et MT-2; les lignes cellulaires B transformées EBV (non-Burkitt), B95-8 (singe), BJA-B et Cess; et la ligne cellulaire myéloïde, K 562 (1). En dehors du système lympho-hématopoïétique, l'anti CD30, Ber-H2, marque les carcinomes embryonnaires et les éléments embryonnaires de tumeurs cellulaires germinales mixtes (7).						
Précautions d'emploi	1. Pour utilisateurs professionnels. 2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN ₃), un composé 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 µl de suspension cellulaire avec 10 µl F 0849. 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.						

- Laver deux fois avec du PBS contenant 2% de BSA. Re-suspendre les cellules dans chaque tube à essai dans une solution appropriée pour cytométrie de flux, par ex 0,3 ml 1% de paraformaldéhyde (fixateur) dans 0,01 mol/l PBS, pH 7,4.
- 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.

DEUTSCH

Zweckbestimmung Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.
F 0849 ist für die durchflusszytometrische Anwendung bestimmt. Der Antikörper markiert anaplastische großzellige Lymphome (ALCL) und Reed-Sternberg-Zellen, und ist ein nützliches Hilfsmittel bei der Identifikation von ALCL und beim Einsatz als sekundärer Marker für die Hodgkin-Krankheit (1). Die differentielle Identifizierung wird durch die mit einem Antikörper-Panel erhaltenen Resultate unterstützt. 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 Ki-1 Antigen (1)

Einleitung CD30 ist ein Transmembran-Zytokinrezeptor, der zur Rezeptorüberfamilie der Tumor-Nekrose-Faktoren (TNF) gehört. Reifes CD30 besitzt eine relative Molekülmasse von 120k Da und wird auf ein Vorläuferprotein mit 90k Da zurückgeführt (2). Der extrazelluläre Bereich von CD30 ist mit dem der Mitglieder der TNF-Rezeptorüberfamilie homolog, während es in der zytoplasmischen Domäne keine Homologie gibt, was auf große Unterschiede bei den Signalisierungsmechanismen hinweist (3). Der intrazelluläre Teil von CD30 besitzt eine Kinaseaktivität. Dies deutet darauf hin, dass CD30 eine Rolle bei der Regulierung der Funktion, Differenzierung und/oder Proliferation von normalen lymphoiden Zellen spielt (2). Eine lösliche Form von CD30 mit 85 kDa, sCD30, die aus dem membrangebundenen Molekül durch proteolytische Spaltung freigesetzt wird, kann im Serum von Patienten mit CD30 exprimierenden Neoplasmen bestimmt werden (3).

Die CD30-Expression tritt auf Hodgkin- und Reed-Sternberg (H-RS)-Zellen, anaplastischen großzelligen Lymphomzellen und aktivierten B- und T-Zellen-Lymphozyten auf (2, 5, 6).

Geliefertes Reagenz Das Anti-CD30-Konjugat F 0849 stammt von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper. Das Konjugat wird in einer gepufferten Lösung mit 1 % bovinem Serumalbumin (BSA) und 15 mmol/l NaN₃, pH 7,2 geliefert. Jedes Fläschchen ist ausreichend für 100 Tests (10 µl des Konjugats sind ausreichend für bis 10⁶ L540-Zellen).

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

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F 0849	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X 0927

Immunogen Co-Zellen, eine Hodgkin-Zelllinie (1).

Spezifität Der Antikörper aus der Ber-H2-Hybridomzelllinie wurde auf dem „Fourth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (Wien 1989) aufgenommen und als zum CD30-Cluster gehörig eingestuft (4).

Das von Anti-CD30 erfasste Epitop, Ber-H2, ist im extrazellulären Raum zwischen den Aminosäurenresten 112 und 412 lokalisiert (3).

Der Antikörper markiert: Zelllinien, die aus der Hodgkin-Krankheit abgeleitet werden, L428, L540, L591, Co, Ho und KM-H2; HTLV-1 transfizierte T-Zelllinien, Hut-102 und MT-2, EBV-transformierte B-Zelllinien (Non-Burkitt), B95-8 (Affe), BJA-B und Cess und die myeloische Zelllinie K562 (1).

Außerhalb des lymphohämatopoetischen Systems markiert Anti-CD30, Ber-H2, embryonale Karzinome und embryonale Elemente gemischter Keimzellentumore (7).

Hinweise und 1. Für geschultes Fachpersonal.

Vorsichtsmaßnahmen 2. 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.

3. 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 1. Venöses Blut in ein Antikoagulans enthaltendes Probenröhrchen gewinnen.

(102386-001) F 0849/EFG/KKR/01.01.03 p. 3/4






- Mononukleäre Zellen durch Zentrifugieren in einem AbtrennungsmEDIUM isolieren Alternativ hierzu können die Erythrozyten im Anschluss an Schritt 6 aufgelöst werden.
- Mononukleäre Zellen zweimal mit RPMI 1640 oder mit PBS, pH 7,2 – 7,4 waschen.
- 100 µl der Zellsuspension mit 10 µl F 0849 mischen.
- 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 die 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 Fluoreszenzkonjugate lichtempfindlich sind und dass die Proben während des Färbevorgangs und bis zur Durchführung der Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

References/ Références/ Literatur

- Schwarting R, Gerdes J, Dürkop H, Falini B, Pileri S, Stein H. Ber-H2: a new anti-Ki-1 (CD30) monoclonal antibody directed at a formol-resistant epitope. Blood 1989;74:1678-89.
- de Bruin PC, Gruss H-J, van der Valk P, Willemze R, Meijer CJLM. CD30 expression in normal and neoplastic lymphoid tissue: biological aspects and clinical implications [review]. Leukemia 1995;9:1620-7.
- Falini B, Pileri S, Pizzolo G, Dürkop H, Flenghi L, Stirpe F, et al. CD30 (Ki-1) molecule: a new cytokine receptor of the tumor necrosis factor receptor superfamily as a tool for diagnosis and immunotherapy [Review]. Blood 1995;85:1-14.
- Schwarting R, Stein H. A3. Cluster report: CD30. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, et al., editors. Leucocyte typing IV. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 4th International Workshop and Conference; 1989 Feb 21-25; Vienna, Austria. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1989. p 419-22.
- Stein H, Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Mason DY, Ziegler A, et al. Identification of Hodgkin and Sternberg-Reed cells as a unique cell type derived from a newly-detected small-cell population. Int J Cancer 1982;30:445--59.
- Stein H, Mason DY, Gerdes J, O'Connor N, Wainscoat J, Pallesen G, et al. The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue: evidence that Reed-Sternberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. Blood 1985;66:848-58.
- Pallesen G, Hamilton-Dutoit SJ. Ki-1 (CD30) antigen is regularly expressed by tumor cells of embryonal carcinoma. Am J Pathol 1988;133:446-50.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 2°C – 8°C 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

(102386-001) F 0849/EFG/KKR/01.01.03 p. 4/4