

## Monoclonal Mouse Anti-Human CD235a, Glycophorin A, Clone JC159

Code No./ Code/ Code-Nr. F 0870      FITC-Conjugated  
 Code No./ Code/ Code-Nr. R 7078      RPE-Conjugated

### ENGLISH

**Intended use** For in vitro diagnostic use.  
 F 0870 and R 7078 are intended for use in flow cytometry. Anti-CD235a, JC159, is a useful tool for the flow cytometric discrimination of the later erythroid cells from lymphoid cells (1), and, generally, antibodies to CD235a have been used for the identification of erythroleukaemia (2). Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.

**Synonyms for antigen** Sialoglycoprotein, GPA (2, 3).

**Introduction** Glycophorin A, CD235a, is a single-pass membrane sialoglycoprotein and carrier of the blood group specificities M and N. The gene is located on chromosome 4q28-q31 and share sequence homology with genes encoding glycophorin B and glycophorin E (3). Glycophorin A is expressed by erythroid cells beginning on morphologically recognizable erythroid precursors, just after the CFU-E stage, to the mature erythrocyte. Once glycophorin A is maximally expressed, the amount in each erythroid cell remains constant and does not appear to change during further maturation (1). The majority of cases of erythroleukaemia express glycophorin A on neoplastic erythroblasts, whereas acute myeloid leukaemia and acute lymphoblastic leukaemia only very rarely express glycophorin A (2, 4).

**Reagent provided** The Anti-CD235a conjugates, F 0870 and R 7078, 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> erythrocytes 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 0870	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927
R 7078	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928

**Immunogen** Membrane extracts of hairy cell leukemia prepared from human spleen (2).

**Specificity** Anti-CD235a, JC159 strongly labels normal erythroid cells at all stages of differentiation from the erythroblast to mature red cell (2).

**Precautions**

1. For professional users.
2. 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.
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 EDTA anticoagulant.
2. Isolate erythrocytes by centrifugation.
3. Mix 100 µL cell suspension with 10 µL fluorochrome-conjugated Anti-CD235a.
4. Use a non-reactive monoclonal antibody of the same isotype, and conjugated with the same fluorochrome, as a negative control (see table).
5. Incubate in the dark at 4 °C for 30 minutes.
6. 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.
7. 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

**Intérêt** Pour diagnostic in vitro.  
F 0870 et R 7078 sont destinés pour un usage en cytométrie en flux. Anti-CD235a, JC159, clone JC159, est un moyen utile pour la discrimination cytométrique en flux des érythrocytes au dernier stade à partir des cellules lymphoïdes (1); d'une manière générale, les anticorps dirigés contre CD235a sont utilisés pour identifier l'érythroleucémie (2). 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.

**Synonymes pour l'antigène** Sialo-glycoprotéine, GPA (2,3).

**Introduction** La glycophorine A, CD235a, est une sialo-glycoprotéine transmembranaire porteuse des spécificités des groupes sanguins M et N. Le gène est situé sur le chromosome 4q28-q31 et partage une séquence homologue avec les gènes codant la glycophorine B et la glycophorine E (3). La glycophorine A est exprimée par les cellules érythroïdes depuis les précurseurs érythroïdes morphologiquement reconnaissables après le stade CFU-E jusqu'à l'érythrocyte mature. Une fois la glycophorine A exprimée au maximum, son niveau dans chaque cellule érythroïde reste constant et ne semble pas changer au fur et à mesure de la maturation (1). Dans la majorité des cas d'érythroleucémie, la glycophorine A est exprimée sur les érythroblastes néoplasiques, alors que dans les cas de leucémie aiguë myéloïde et de leucémie aiguë lymphoblastique, elle n'est que très rarement exprimée (2, 4).

**Réactif fourni** Les conjugués anti-CD235a F 0870 et R 7078 ont été produits 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 pour un maximum de 106 érythrocytes dans le sang périphérique humain normal).

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 0870	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927
R 7078	RPE (R-Phycoérythrine)	X 0928

**Immunogène** Préparation membranaire de cellules leucémiques à tricholeucocytes extraites de rate humaine (2).

**Spécificité** L'anticorps anti-CD235a, JC 519, marque fortement les érythrocytes normaux à tous les stades de la différenciation, de l'érythroblaste à l'érythrocyte mature (2).

**Précautions d'emploi**

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. 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 rincer accumulation d'azides métallisés dans la tuyauterie.
3. Comme pour tout dérivé biologique dangereux à manipuler, une précision s'impose.

**Conservation** Stocker à l'obscurité entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption mentionnée sur le flacon de l'échantillon. Dans le cas où les réactifs sont conservés sous d'autres conditions que celles spécifiées, les 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. Recueillir le sang veineux dans un tube à essai contenant de l'EDTA.
2. Isoler les érythrocytes par centrifugation.
3. Mélanger 100 mL de suspension cellulaire à 10 mL d'anti-CD235a conjugué au fluorochrome.
4. Utiliser comme contrôle négatif un anticorps monoclonal non réactif du même isotype et conjugué au même fluorochrome (voir tableau).
5. Incuber dans l'obscurité à 4 °C pendant 30 minutes.
6. Laver deux fois avec du PBS contenant 2% de BSA. Remettre les cellules en suspension dans chaque tube dans un liquide pour cytométrie en flux, par exemple 0,3 mL de paraformaldéhyde à 1% (fixateur) dans 0,01 mol/L de PBS, pH 7,4.
7. Analyser sur un cytomètre en flux.

Il est recommandé d'inclure avec chaque analyse des témoins positif et négatif adéquat pour contrôler le réactif et la préparation. Les conjugués de fluorochrome sont sensibles à la lumière, et les échantillons doivent être mis à l'abri de la lumière durant la procédure d'immunomarquage et jusqu'à l'analyse.

**Zweckbestimmung** Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.  
F 0870 und R 7078 sind für den durchflusszytometrischen Gebrauch bestimmt. JC159 ist ein nützliches Mittel für die durchflusszytometrische Unterscheidung der späteren erythroiden Zellen von lymphoiden Zellen (1). Generell wurden Antikörper gegen CD235a für die Identifizierung der Erythroleukämie (2) genutzt. 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** Sialoglycoprotein, GPA (2, 3).

**Einleitung** Glykophorin A, CD235a ist ein "single pass" Membran-Sialoglykoprotein und Träger der Blutgruppenspezifitäten M und N. Das Gen ist auf dem Chromosomen 4q28-q31 lokalisiert und teilt Sequenzhomologie mit Genen, die Glykophorin B und Glykophorin E (3) kodieren. Glycophorin A wird von erythroiden Zellen exprimiert, beginnend mit der Expression auf morphologisch erkennbaren Erythroidvorläufern, unmittelbar nach dem CFU-E-Stadium bis hin zum reifen Erythrozyten. Sobald Glykophorin A maximal exprimiert ist, bleibt die Menge in jeder erythroiden Zelle konstant und scheint sich während der weiteren Maturation nicht zu verändern (1). In den überwiegenden Fällen von Erythroleukämie wird Glykophorin A auf neoplastischen Erythroblasten exprimiert, wohingegen akute myeloische Leukämie und akute lymphoblastische Leukämie nur selten Glykophorin A exprimieren (2, 4).

**Geliefertes Reagenz** Die Anti-CD235a Konjugate F 0870 und R 7078 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 Konjugat ist für bis 10<sup>6</sup> Erythrozyten aus normalem, humanem peripherem Blut ausreichend).

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

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F 0870	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X 0927
R 7078	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928

**Immunogen** Aus menschlicher Milzpärparaten gewonnene Membranextrakte von Haarzellen-Leukämie (2).

**Spezifität** Anti-CD235a, JC159 markiert in erheblichem Umfang normale erythroide Zellen in jeder Phase der Differenzierung, vom Erythroblasten bis zur reifen roten Zelle (2).

**Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

1. Für geschultes Fachpersonal.
2. Dieses Produkt enthält Natrium-Azid (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.
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 EDTA-Antikoagulans enthaltendes Probenröhrchen gewinnen.
2. Erythrozyten durch Zentrifugieren isolieren.
3. 100 µL der Zellsuspension mit 10 µL des fluorochromkonjugierten Anti-CD235a mischen.
4. Als Negativkontrolle einen nicht reaktiven, monoklonalen Antikörper des gleichen Isotyps, konjugiert an dasselbe Fluorochrom, verwenden (s. Tabelle).
5. Im Dunkeln bei 4°C 30 Minuten lang inkubieren.
6. Zweimal mit PBS waschen, das 2% BSA enthält. Die Zellen in einer für Durchflusszytometrie geeigneten Flüssigkeit, z. B. 0,3 mL 1% Paraformaldehyd (Fixativ) in 0,01 mol/L PBS, pH 7,4, resuspendieren.
7. 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

1. Loken MR, Shah VO, Dattilio KL, Civin CI. Flow cytometric analysis of human bone marrow: I. Normal erythroid development. Blood 1987;69:255-63.
2. Erber WN, McLachlan J, Cordell JL, Turley H, Reid M, Mason DY. A new monoclonal antibody (JC159) that detects glycophorin A for the diagnosis of erythroleukaemia. Hematol Rev 1991;5:113-20.
3. van der Schoot CE, Baardman R, Lighthart P, de Jong I, von dem Borne AEK, de Haas M. RC4. CD235a and CD235b – Glycophorin A and Glycophorin B. In: Mason D, André P, Bensussan A, Buckley C, Civin C, Clark E, et al., editors. Leucocyte typing VII. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 7th International Workshop and Conference; 2000 Jun 19-23; Harrogate, United Kingdom. New York: Oxford University Press Inc.; 2002. p. 577-9.

4. Greaves MF, Sieff C, Edwards PAW. Monoclonal antiglycophorin as a probe for erythroleukemias. Blood 1983;61:645-51.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 <p>Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer</p>	 <p>Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich</p>	 <p>Use by Utiliser avant Verwendbar bis</p>
 <p>In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum</p>	 <p>Keep away from sunlight (consult storage section) Conserver à l'abri de la lumière (voir la section Conservation) Vor Sonnenlicht schützen (siehe Abschnitt Aufbewahrung)</p>	 <p>Manufacturer Fabricant Hersteller</p>
 <p>Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten</p>	 <p>Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung</p>	 <p>Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft</p>



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