

Monoclonal Mouse Anti-Human CD38, Clone AT13/5

Code No./ Code/ Code-Nr. **F 7101 FITC-Conjugated**
Code No./ Code/ Code-Nr. **R 7144 RPE-Conjugated**

ENGLISH										
Intended use	For in vitro diagnostic use. F 7101 and R 7144 are intended for use in flow cytometry. CD38 is a useful marker in the immuno-phenotyping of acute leukaemias. Additionally, antibodies to CD38 are valuable for the identification of plasma cells, as poorly differentiated plasma cells may mimick other blastic lymphoid cells (1). Interpretation must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.									
Synonym for antigen	T10 (1).									
Introduction	CD38 is a 45 kDa type II integral membrane glycoprotein consisting of an N-terminal 20 amino acid cytoplasmic domain, a 23 amino acid transmembrane domain, and a 257 amino acid extracellular domain. CD38 is associated with different molecules in different cell types and these unique combinations cause unique cell-type specific signalling. One of the known ligands that activates CD38-mediated signalling is CD31 (2). CD38 is expressed by a number of different cell-types and the pattern of expression often changes with differentiation and maturation. Thus, CD38 expression is found during early stages of B and T-cell differentiation, is lacking during the later intermediate stages, and is regained near the end of maturation. CD38 is expressed at variable levels on the majority of haematopoietic cells, prevalently during early differentiation and activation, and it is expressed strongly on plasma cells (3-5). CD38-positive cell types outside the haematopoietic system include subsets from the gut, brain, prostate, pancreas, bone, eye and muscle (2). CD38 is expressed on approximately 60% of CD34-positive peripheral blood mononuclear cells. The least mature CD34-positive cells are characterized by a lack of CD38 (6).									
Reagent provided	The Anti-CD38 conjugates, F 7101 and R 7144, 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 100 tests (10 µL of conjugate for up to 10 ⁶ leucocytes from normal peripheral blood). <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 7101</td> <td>FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)</td> <td>X 0927</td> </tr> <tr> <td>R 7144</td> <td>RPE (R-Phycoerythrin)</td> <td>X 0928</td> </tr> </tbody> </table>	Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.	F 7101	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927	R 7144	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928
Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.								
F 7101	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927								
R 7144	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928								
Immunogen	Namalwa cells (B lymphocyte cell line from a Burkitt's lymphoma) (7).									
Specificity	Anti-CD38, AT13/5, was included in the Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Kobe 1996), and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD38 (5).									
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	<ol style="list-style-type: none"> Collect venous blood into a test tube containing an anticoagulant. Isolate mononuclear cells by centrifugation on a separation medium. Alternatively, lyse the red cells after step 6. Wash the mononuclear cells twice with RPMI 1640 or PBS, pH 7.2-7.4. Mix 100 µL cell suspension with 10 µL fluorochrome-conjugated Anti-CD38. 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 4 °C for 30 minutes. 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. Analyse on a flow cytometer. 									
(102393-001)	F 7101/R 7144/EFG/KJA/01.07.02 p. 1/4									

FRANÇAIS										
Intérêt	Pour diagnostic in vitro. F 7101 et R 7144 sont destinés pour un usage en cytométrie en flux. CD38 est un marqueur utile dans l'immuno-phénotypage des leucémies aiguës. De plus, les anticorps dirigés contre le CD38 sont précieux pour ce qui est de l'identification des cellules du plasma, car les cellules plasmiques mal différenciées sont susceptibles de mimer les autres cellules lymphoïdes blastiques (1). L'interprétation des résultats doit être entreprise par un professionnel certifié dans le contexte de l'histoire clinique du patient et des autres examens diagnostics.									
Synonyme pour l'antigène	T10 (1).									
Introduction	CD38 est une glycoprotéine membranaire intégrale de type II, de 45 kDa, constituée d'un domaine cytoplasmique N-terminal comprenant 20 acides aminés, d'un domaine transmembranaire comprenant 23 acides aminés, et d'un domaine extracellulaire comprenant 257 acides aminés. CD38 est associé à diverses molécules dans divers types de cellules et ces combinaisons spécifiques sont à l'origine de la transmission de signaux spécifiques à un type cellulaire. CD31 est l'un des ligands connus pour activer la transmission de signaux à médiation par le CD 38 (2). CD 38 est exprimé par un grand nombre de types cellulaires différents et son profil d'expression est souvent modifié en fonction de leur différenciation et de leur maturation. Ainsi, l'expression du CD 38 est présente au cours des étapes précoces de la différenciation des lymphocytes B et T, absente au cours des étapes intermédiaires plus tardives, et réapparaît à proximité de la fin de la maturation. CD 38 est exprimé à différents niveaux sur la majorité des cellules hématopoïétiques, fréquemment au cours de la différenciation et de l'activation précoces, et il est fortement exprimé sur les cellules plasmiques (3-5). En dehors du système hématopoïétique, les types cellulaires positifs vis-à-vis du CD 38 se retrouvent dans les intestins, le cerveau, la prostate, les os, les yeux et les muscles (2). CD 38 est exprimé sur environ 60% des cellules mononucléaires du sang périphérique positives vis-à-vis du CD 34. Les cellules positives vis-à-vis du CD 34 les moins mûres sont caractérisées par un défaut de CD38 (6).									
Réactif fourni	Les conjugués anti-CD38, F 7101 et R 7144, ont été obtenus à partir d'un anticorps monoclonal de souris purifié. Les conjugués sont fournis à l'état liquide dans un tampon contenant 1% d'albumine sérique bovine (BSA) et 15 mmol/L de NaN ₃ , à 7,2 de pH. Chaque flacon permet de réaliser 100 analyses (10 µL de conjugué pouvant traiter jusqu'à 10 ⁶ de leucocytes provenant de sang périphérique normal). <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>Fluorochrome</th> <th>Code du Contrôle Négatif</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>F 7101</td> <td>FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)</td> <td>X 0927</td> </tr> <tr> <td>R 7144</td> <td>RPE (R-Phycoérythrine)</td> <td>X 0928</td> </tr> </tbody> </table>	Code de l'anticorps	Fluorochrome	Code du Contrôle Négatif	F 7101	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927	R 7144	RPE (R-Phycoérythrine)	X 0928
Code de l'anticorps	Fluorochrome	Code du Contrôle Négatif								
F 7101	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927								
R 7144	RPE (R-Phycoérythrine)	X 0928								
Immunogène	Cellules Namalwa (lignée cellulaire de lymphocytes B provenant d'un lymphome de Burkitt) (7).									
Spécificité	L'AT13/5, anti-CD38, a été intégré au cours du Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Kobe 1996), et les études réalisées par de nombreux laboratoires ont confirmé sa réactivité vis-à-vis du CD38 (5).									
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.									
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	<ol style="list-style-type: none"> Prélever le sang veineux dans un tube à essais contenant un anticoagulant. Isoler les cellules mononucléaires par centrifugation dans un milieu de séparation. Sinon, lyser les globules rouges après l'étape 6. Laver les cellules mononucléaires deux fois avec du RPMI 1640 ou du PBS, à 7,2-7,4 de pH. Mélanger 100 µL de la suspension de cellules avec 10 µL de conjugué fluorochrome Anti-CD38. Utiliser un anticorps monoclonal non-réactif du même isotype, conjugué au même fluorochrome, en tant que contrôle négatif (voir tableau). Incuber à l'obscurité à 4 °C pendant 30 minutes. 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. 									
(102393-001)	F 7101/R 7144/EFG/KJA/01.07.02 p. 2/4									

8. Analyser sur un cytomètre en flux.

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

DEUTSCH

Zweckbestimmung Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.
F 7101 und R 7144 sind für den durchflusszytometrischen Gebrauch bestimmt. CD38 ist ein nützlicher Marker in der Immunphänotypisierung der akuten Leukämien. Überdies sind Antikörper gegen CD38 wichtig für die Identifizierung von Plasmazellen, da schlecht differenzierte Plasmazellen andere blastische Lymphoidzellen imitieren können (1). Die Interpretation muss unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren durch einen erfahrenen Pathologen erfolgen.

Synonyme Bezeichnungen des Antigens T10 (1).

Einleitung CD38 ist ein 45 kDa membranintegriertes Glykoprotein des Typs II, bestehend aus einer 20 Aminosäuren zählenden, zytoplasmatischen N-terminalen Domäne, einer transmembranischen Domäne mit 23 Aminosäuren sowie einer 257 Aminosäuren umfassenden extrazellulären Domäne. CD38 wird an diverse Moleküle in einer Anzahl von verschiedenen Zellarten gebunden und diese einzigartigen Kombinationen bewirken eine zelltypspezifische Signalisierung. Einer der bekannten Liganden, durch den CD-38 vermittelte Signalgabe aktiviert wird, ist CD31 (2).
CD38 wird von einer Anzahl unterschiedlicher Zelltypen exprimiert, wobei sich das Expressionsmuster häufig mit der Differenzierung und Reifung ändert. So wird z.B. CD38 in den frühen Differenzierungsstadien der B- und T-Zellen exprimiert, fehlt in den Zwischenstadien und erscheint wieder gegen das Ende der Reifung. CD38 wird in wechselndem Ausmaß auf der Mehrzahl der hämatopoetischen Zellen, vornehmlich während der frühen Differenzierung und Aktivierung, exprimiert und seine Expression ist besonders stark auf Plasmazellen zu finden (3-5). CD38-positive Zellarten außerhalb des hämatopoetischen Systems schließen Untergruppen aus Darm, Gehirn, Prostata, Pancreas, Knochen, Auge und Muskel mit ein (2).
wird auf ungefähr 60% der CD34-positiven mononukleären Zellen im peripheren Blut exprimiert. Die unreifsten CD34-positiven Zellen sind durch das Fehlen von CD38 charakterisiert (6).

Delivered Reagent Die Anti-CD38 Konjugate C 7101 und R 7144 stammen von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper. Die Konjugate werden in einer gepufferten Lösung mit 1% bovinem Serumalbumin (BSA) und 15 mmol/L Na₃N, pH 7,2, geliefert. Jedes Fläschchen ist für 100 Tests ausreichend (10 µL des Konjugats sind für bis 10⁶ Leukozyten aus normalem peripherem Blut ausreichend).
Isotyp: IgG1, Kappa. **Konjugat-Konzentration mg/L:** Siehe Produktetikett.

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F 7101	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X 0927
R 7144	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928

Immunogen Namalwa-Zellen (B-Lymphozyten-Zelllinie von einem Burkitt-Lymphom) (7).

Spezifität Anti-CD38, AT13/5 wurde Kontext des „Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ aufgenommen (Kobe 1996) und Studien in einigen Laboratorien bestätigten seine Reaktivität mit CD38 (5).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Für geschultes Fachpersonal.
- Dieses Produkt enthält Natrium-Azid (Na₃N), 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-CD38 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 Durchflusszytometrie geeigneten Flüssigkeit, z. B. 0,3 mL 1% 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.

References/ Références/ Literatur

- Leong AS-Y, Cooper K, Leong FJW-M. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Oxford University Press; 1999. p. 87-8.
- Deaglio S, Mehta K, Malavasi F. Human CD38: a (r)evolutionary story of enzymes and receptors (review). Leuk Res 2001;25:1-12.
- Jackson DG, Bell JI. Isolation of a cDNA encoding the human CD38 (T10) molecule, a cell surface glycoprotein with an unusual discontinuous pattern of expression during lymphocyte differentiation. J Immunol 1990;144:2811-5.
- Terstappen LW, Hollander Z, Meiners H, Loken MR. Quantitative comparison of myeloid antigens on five lineages of mature peripheral blood cells. J Leukoc Biol 1990;48:138-48.
- Morra M, Deaglio S, Mallone R, di Rosa G, Tibaldi E, Zini G, et al. BC10. CD38 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. 151-4.
- Herbein G, Sovalat H, Wunder E, Baerenzung M, Bachorz J, Lewandowski H, et al. Isolation and identification of two CD34+ cell subpopulations from normal human peripheral blood. Stem Cells 1994;12:187-97.
- Ellis JH, Barber KA, Tutt A, Hale C, Lewis AP, Glennie MJ, et al. Engineered anti-CD38 monoclonal antibodies for immunotherapy of multiple myeloma. J Immunol 1995;155:925-37.

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	