

Monoclonal Mouse
Anti-Human CD24/FITC
 Clone SN3
Code No./ Code/ Code-Nr. F 7134
 Edition/ Ausgabe 01.01.03

ENGLISH							
Intended use	For in vitro diagnostic use. F 7134 is intended for use in flow cytometry. Anti-CD24 is considered essential for the initial evaluation of non-T-cell acute lymphoblastic leukaemias (ALL) and B-cell lymphoproliferative disorders together with a panel of other antibodies (1-5). 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	BA-1 and heat stable antigen (HSA) (6).						
Introduction	The CD24 antigen, which has a molecular weight of 35-45 kDa, is a glycosyl phosphatidylinositol (GPI)-anchored surface molecule. It is a member of a family that also includes HSA and CD52. Cross-linking of CD24 can induce increased intracellular Ca ⁺⁺ in mature B lymphocytes (6). CD24 is expressed at multiple stages of B cell development, beginning with the bone marrow CD34+ pro-B-cell compartment and continuing through mature surface IgM+/IgD+ B cells. Plasma cells express very low to negligible levels of CD24 (7). CD24 is not expressed on the cell surface of normal T cells or monocytes, but is expressed on mature granulocytes (4, 7). The antigen is also present on a variety of epithelial types (6). CD24 is expressed on the vast majority of B-ALL, B-cell chronic lymphocytic leukaemia (B-CLL) and B-cell non-Hodgkin's lymphoma (1-5). The antigen is also present on acute myeloid leukaemias of FAB subtype M4 and M5 and on CD13+/CD33+ myeloid cells in the bone marrow of patients with chronic myeloid leukaemia (CML) (3, 7). CD24 is present at high levels in small cell lung carcinoma and in ovarian cancer (6, 8).						
Reagent provided	The Anti-CD24 conjugate, F 7134, 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 Na ₃ N, pH 7.2. Each vial contains 100 tests (10 µL of conjugate for up to 10 ⁶ leucocytes from normal human 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 7134</td> <td>FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)</td> <td>X 0927</td> </tr> </tbody> </table>	Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.	F 7134	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927
Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.					
F 7134	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927					
Immunogen	Isolated membrane fraction of the pre-B leukaemic cell line NALM-1 (5).						
Specificity	Anti-CD24, SN3, was included in the Fifth International Workshop and Conference on Leucocyte Cell Differentiation Antigens and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with the CD24 antigen (7). Anti-CD24, SN3, reacts with B cells and granulocytes (4, 7). It shows no reactivity to T cells, monocytes, erythrocytes or platelets. In acute leukaemias, Anti-CD24, SN3, has been shown to label 17/23 of non-T/non-B-cell ALL cases including pre-B-ALL cases, 1/1 case of B-ALL, 1/5 of acute myelocytic leukaemia and 1/3 cases of acute monocytic leukaemia (4). In chronic lymphoproliferative disorders, Anti-CD24, SN3, has been shown to label 6/6 cases of B-CLL, 1/1 case of B-cell lymphoma (4), 16/20 cases of B-cell lymphoma (5) and 2/2 cases of Hodgkin's disease. The antibody also labelled 5/5 cases of CML (4).						
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 7134. 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.						

- 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.

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 7134 est destiné pour un usage en cytométrie en flux. Anti-CD24 est considéré essentiel pour l'évaluation initiale des leucémies lymphoblastiques aiguës sans cellules T (ALL) et les troubles lymphoprolifératifs de la cellule B en association avec un panel des autres anticorps (1-5). 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	BA-1 et antigène thermostable (HSA) (6).						
Introduction	L'antigène CD24, qui a un poids moléculaire 35-45 kDa, est une molécule de surface ancrée au glycosylée au phosphatidylinositol (GPI). Il est un membre d'une famille qui comprend aussi HSA et CD52. La réticulation de CD24 peut provoquer un développement cellulaire Ca ⁺⁺ dans les lymphocytes B matures (6). CD24 est exprimé à plusieurs étapes du développement de la cellule B, commençant par la moelle osseuse CD34+ compartiment cellulaire pro-B et se poursuivant à travers les cellules B à surface mature IgM+/IgD+. Les cellules plasmatiques expriment des niveaux minimales à négligeables de CD24 (7). CD24 n'est pas exprimé sur la surface cellulaire des cellules T normales ou des monocytes, mais est exprimé sur les granulocytes matures (4, 7). L'antigène est aussi présent sur une variété de types d'épithélium (6). CD24 est exprimé sur la grande majorité de B-ALL, de leucémies lymphocytiques chroniques, des cellules B (B-CLL) et le lymphome non Hodgkinien des cellules B (1-5). L'antigène est aussi présent sur les leucémies myéloïdes aiguës du sous-groupe FAB M4 et M5 et sur les cellules myéloïdes CD13+/CD33+ dans la moelle osseuse des patients atteints de leucémie myéloïde chronique (CML) (3, 7). CD24 est présent à niveaux élevés dans le carcinome pulmonaire de la petite cellule et dans le cancer ovarien (6, 8).						
Réactif fourni	Le conjugué Anti-CD24, F 7134, a été produit à partir d'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 Na ₃ N à 15 mmol/l, pH 7,2. Chaque flacon contient 100 tests (10 µl de conjugué pouvant traiter jusqu'à 10 ⁶ de leucocytes provenant de sang périphérique normal humain). <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 7134</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 7134	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927
Code de l'anticorps	Fluor	Code du Contrôle Négatif					
F 7134	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927					
Immunogène	Fraction membranaire isolée de la ligne cellulaire leucémique pré-B NALM-1 (5).						
Spécificité	Anti-CD24, SN3, était inclu durant la Cinquième Conférence-Atelier Internationale sur les Antigènes de Différenciation de la Cellule Leucocytaire et des études par plusieurs laboratoires ont mis en évidence sa réactivité avec l'antigène CD24 (7). Anti-CD24, SN3, montre une réaction aux cellules B et granulocytes (4, 7). Il ne révèle pas de réactivité aux cellules T, aux monocytes, aux érythrocytes ou aux plaquettes. Dans les leucémies aiguës, Anti-CD24, SN3, est mis en évidence pour le marquage de 17/23 de cas à cellules sans T/sans B ALL y compris les cas pré-B-ALL, 1/1 cas de B-ALL, 1/5 de leucémie myélocytique aiguë et 1/3 cas de leucémie monocytique aiguë (4). Dans les troubles lymphoprolifératifs chroniques, Anti-CD24, SN3, est mis en évidence pour le marquage de 6/6 cas de B-CLL, 1/1 cas de lymphome à cellule B (4), 16/20 cas de lymphome à cellule B (5) et 2/2 cas de la maladie de Hodgkin. L'anticorps marquait aussi 5/5 cas de CML (4).						
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.						

- Mélanger 100 µl de suspension cellulaire avec 10 µl F 7134.
- 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 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.
- 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 7134 ist für den durchflusszytometrischen Gebrauch bestimmt. Anti-CD24 wird zusammen mit einem Panel weiterer Antikörper als wesentlich für die initiale Beurteilung nicht auf T-Zellen zurückgehende, akuter lymphoblastischer Leukämien (ALL) und lymphoproliferativer Erkrankungen der B-Zellen angesehen (1-5). 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 BA-1 und hitzestabiles Antigen (HSA) (6).

Einleitung Das CD24-Antigen hat eine relative Molekülmasse von von 35-45 kDa und ist ein Glykosyl-Phosphatidylinositol (GPI)-verankertes Oberflächenmolekül. Es ist Mitglied einer Familie, zu der auch HSA und CD52 gehören. Die Kreuzvernetzung von CD24 kann bei reifen B-Lymphozyten zu einem Anstieg des intrazellulären Ca⁺⁺ führen (6).

CD24 wird in mehreren Phasen der B-Zellen-Entwicklung exprimiert, die mit dem CD34+-Pro-B-Zellen-Knochenmarks-Kompartiment beginnen und bis zu reifen Oberflächen-IgM+/IgD+-B-Zellen reichen. Plasmazellen exprimieren sehr niedrige oder gar unwesentliche Mengen an CD24 (7). CD24 wird auf der Oberfläche normaler T-Zellen oder Monozyten nicht exprimiert, dafür jedoch auf reifen Granulozyten (4, 7). Das Antigen liegt auch bei einer Vielfalt von Epithelarten vor (6).

CD24 wird bei der überwiegenden Mehrheit der Fälle mit B-ALL, chronischer lymphozytärer Leukämie der B-Zellen (B-CLL) und Non-Hodgkin-Lymphom der B-Zellen (1-5) exprimiert. Das Antigen kommt auch bei akuten myeloischen Leukämien des FAB-Untertyps M4 und M5 und auf myeloischen CD13+/CD33+-Zellen im Knochenmark von Patienten mit chronischer myeloischer Leukämie (CML) vor (3, 7). CD24 liegt bei kleinzelligen Bronchialkarzinomen und Ovarialkarzinomen in großen Mengen vor (6, 8).

Delivered Reagent Das Anti-CD24-Konjugat F 7134 stammt von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper. Das Konjugat wird 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: IgG1, Kappa. Konjugat-Konzentration mg/l: Siehe Produktetikett.

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F 7134	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X 0927

Immunogen Isolierte Membranfraktion der Prä-B-Leukämiezelllinie NALM-1 (5).

Spezifität Anti-CD4, SN3, wurde im Kontext des „Fifth International Workshop and Conference on Leucocyte Cell Differentiation Antigens“ aufgenommen und Studien in einigen Laboratorien bestätigten seine Reaktivität mit CD24-Antigen (7). Anti-CD24, SN3, reagiert mit B-Zellen und Granulozyten (4, 7). Es zeigt keine Reaktivität mit T-Zellen, Monozyten, Erythrozyten oder Thrombozyten. Es ist nachgewiesen worden, dass Anti-CD24, SN3, bei akuter Leukämie 17/23 Fällen mit Non-T-/Non-B-Zellen-ALL einschließlich Prä-B-ALL, 1/1 Fall mit B-ALL, 1/5 Fällen mit akuter myelozytärer Leukämie und 1/3 Fällen mit akuter monozytärer Leukämie markiert (4). Bei chronischen lymphoproliferativen Erkrankungen ist festgestellt worden, dass Anti-CD24, SN3, 6/6 Fällen mit B-CLL, 1/1 Fall mit B-Zellen-Lymphom (4), 16/20 Fällen mit B-Zellen-Lymphom (5) und 2/2 Fällen mit Hodgkin-Krankheit markiert. Der Antikörper markierte außerdem 5/5 Fällen mit CML (4).

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

(102396-001)

F 7134/EFG/SSA/01.01.03 p. 3/4

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 F 7134 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%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.

References/ Références/ Literatur

- 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.
- Ratei R, Sperling C, Karawajew L, Schott G, Schrappe M, Harbott J, Riehm H, et al. Immunophenotype and clinical characteristics of CD45-negative and CD45-positive childhood acute lymphoblastic leukemia. Ann Hematol 1998;77:107-14.
- Raife TJ, Lager DJ, Kemp JD, Dick FR. Expression of CD24 (BA-1) predicts monocytic lineage in acute myeloid leukemia. Am J Clin Pathol 1994;101:296-9.
- Fukukawa T, Matsuzaki H, Haruta Y, Hara H, Seon BK. New monoclonal antibodies SN3, SN3a, and SN3b directed to sialic acid of glycoprotein on human non-T leukemia cells. Exp Hematol 1986;14:850-5.
- Barcos M, Pollard C, Fukukawa T, Seon BK. Follicular mantle zone cell subpopulations detected by monoclonal antibody SN3. Hematol Oncol 1986;4:251-9.
- Turni L, Shaw S, Watson B, Mason D. CD guide. 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. 769-70.
- Le Bien TW. B8. CD24 workshop panel report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, et al., editors. Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. Proceedings of the Fifth International Workshop and Conference; 1993 Niv 3-7; Boston, USA. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. Volume 1 p. 539-41.
- Kristiansen G, Denkert C, Schlüns K, Dahl E, Pilarsky C, Hauptmann S. CD24 is expressed in ovarian cancer and is a new independent prognostic marker of patient survival. Am J Pathol 2002;161:1215-21.

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	

(102396-001)

F 7134/EFG/SSA/01.01.03 p. 4/4