

Monoclonal Mouse
Anti-Human Plasma Cell/FITC
 Clone VS38c
Code No./ Code/ Code-Nr. F 7149
 Edition/ Edition/ Ausgabe 01.11.02

ENGLISH							
Intended use	For in vitro diagnostic use. F 7149 is intended for use in flow cytometry. The antibody reacts strongly with human plasma cells (1). The VS38c antibody has been shown to identify the human p63 protein (2, 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	p63 (2).						
Introduction	Anti-Human Plasma Cell recognizes the intracytoplasmic antigen p63 of 64 kDa present in normal and neoplastic cells (4). p63 is an intracellular type II transmembrane protein which is localized in the rough endoplasmic reticulum. The function of p63 is unknown, but its abundance in secretory cells and localization to the endoplasmic reticulum suggests a conserved role in protein processing or secretion (2).						
Reagent provided	The Anti-Human Plasma Cell conjugate, F7149, 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 HS-Sultan 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 7149</td> <td>FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)</td> <td>X 0927</td> </tr> </tbody> </table>	Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.	F 7149	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927
Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.					
F 7149	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927					
Immunogen	MCF-7 AdR, a multi-drug resistant breast carcinoma cell line (1).						
Specificity	Anti-Human Plasma Cell, VS38c, was submitted to and characterized at the sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigen (2). Intracellular markers are not clustered. Anti-Human Plasma Cell, VS38c, labels normal and neoplastic plasma cells in various tissues, but does not label peripheral blood lymphocytes, although some weak labelling of monocytes and neutrophils could occasionally be detected (1). The VS38c antibody also labels melanocytic cells, particularly malignant melanoma cells, a number of epithelial cells from various organs (5) and osteoblasts from bone marrow biopsies (4). Myeloma, plasmacytoma, and lymphoplasmacytoid lymphomas are strongly labelled and about a third of large B-cell lymphomas are weakly labelled. T-cell lymphomas are negative. Occasional weak labelling of endothelial cells may occur (2).						
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> For professional users. This product contains sodium azide (NaN₃), 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. 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"> Transfer 50 µL (up to 10⁶ cells) of the cell suspension to be analysed (whole blood, bone marrow or mononuclear cells) to a test tube. Add 100 µL DakoCytomation IntraStain Reagent A (Fixation), code No. K 2311. Mix gently by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension. Incubate at room temperature for 15 minutes. Add 2 mL PBS and mix gently by using a vortex mixer. Centrifuge at 300 x g for 5 minutes, then aspirate the supernatant, leaving approximately 50 µL of fluid. Mix thoroughly by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension and add 100 µL DakoCytomation IntraStain Reagent B (Permeabilization), code No. K 2311. Add 10 µL of F 7149. Mix gently by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension. 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 room temperature for 15 minutes. Repeat steps 4 and 5. 						

- Resuspend the pellet in an appropriate fluid for flow cytometric analysis, 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 in vitro. L'anticorps F 7149 est destiné à être utilisé dans le cadre d'une cytométrie en flux. L'anticorps réagit fortement avec les plasmocytes humains (1). L'anticorps VS38c permet d'identifier la protéine p63 humaine (2, 3). L'interprétation des résultats doit être réalisée uniquement par un professionnel agréé dans le contexte de l'historique clinique du patient et d'autres examens.						
Synonyme pour l'antigène	p63 (2).						
Introduction	L'anticorps anti-plasmocytes humains reconnaît l'antigène intracytoplasmique p63, de 64 kDa, présent dans les cellules normales et néoplasiques (4). La protéine p63 est une protéine transmembranaire, intracellulaire, de type II localisée dans le réticulum endoplasmique granuleux. La fonction de la protéine p63 est inconnue, mais son abondance dans les cellules sécrétoires et sa localisation dans le réticulum endoplasmique laisse penser qu'elle joue un rôle dans le traitement ou la sécrétion des protéines (2).						
Réactif fourni	Le conjugué anti-plasmocytes humains, F 7149, a été obtenu à partir d'un anticorps monoclonal purifié de souris. Le conjugué est fourni sous forme 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 cellules HS-Sultan) <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Concentration du conjugué mg/L:</u> Voir l'étiquette sur le flacon.						
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Code de l'anticorps</th> <th>Fluorochrome</th> <th>Contrôle négatif</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>F 7149</td> <td>FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)</td> <td>X 0927</td> </tr> </tbody> </table>	Code de l'anticorps	Fluorochrome	Contrôle négatif	F 7149	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927
Code de l'anticorps	Fluorochrome	Contrôle négatif					
F 7149	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927					
Immunogène	MCF-7 AdR, une lignée cellulaire de carcinome mammaire résistant à de nombreux médicaments (1).						
Spécificité	L'anticorps VS38c, anti-plasmocytes humains, a été présenté et caractérisé lors du sixième International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigen (2). Les marqueurs cellulaires ne sont pas regroupés. L'anticorps VS38c, anti-plasmocytes humains marque les plasmocytes normaux et néoplasiques de divers tissus mais pas les lymphocytes du sang périphérique, bien qu'un faible marquage des monocytes et des neutrophiles puisse être parfois détecté (1). L'anticorps VS38c marque également les cellules mélanocytaires, en particulier les cellules de mélanomes malins ainsi que de nombreuses cellules épithéliales provenant de divers organes (5) et les ostéoblastes obtenus à partir de biopsies de la moelle osseuse (4). Les myélomes, les plasmocytomes et les lymphomes lymphoplasmocytoides sont fortement marqués et environ un tiers des lymphomes à grandes cellules B sont faiblement marqués. Les lymphomes à cellules T sont négatifs. Un faible marquage des cellules endothéliales peut parfois se produire (2).						
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none"> Pour utilisateurs professionnels. Ce produit renferme de l'azide de sodium (NaN₃), un agent chimique extrêmement 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 les canalisations en plomb et en cuivre pour former des dépôts d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer avec de grandes quantités d'eau pour éviter l'accumulation d'azides métalliques dans les canalisations. Comme pour tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être utilisées. 						
Conservation	Conserver dans l'obscurité entre 2° et 8°C. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs ont été conservés dans des conditions autres que celles qui sont préconisées, ces conditions doivent être vérifiées par les utilisateurs. Aucun signe visible n'indique l'instabilité du produit. Par conséquent il faut utiliser des contrôles positifs et négatifs au cours de chaque technique. Si un marquage non conforme est observé qui ne peut pas s'expliquer par des variations dans les procédures du laboratoire et si le réactif est défectueux, contactez nos services techniques.						
Procédure de marquage	<ol style="list-style-type: none"> Transférer 50 µL (jusqu'à 10⁶ de cellules) de la suspension cellulaire afin de les analyser (sang total, de la moelle osseuse ou cellules mononucléaires) dans un tube à essai. Ajouter 100 µL de réactif A DakoCytomation IntraStain (Fixation), code K 2311. Mélanger doucement à l'aide d'un mélangeur vortex pour s'assurer que les cellules sont en suspension. Laisser incubé pendant 15 minutes à température ambiante. Ajouter 2 mL de PBS et agiter délicatement à l'aide d'un mélangeur vortex. Centrifuger à 300 g pendant 5 minutes, puis aspirer le surnageant et conserver environ 50 µL de liquide Mélanger soigneusement à l'aide d'un mélangeur vortex pour s'assurer que les cellules sont en suspension et ajouter 100 µL de réactif B DakoCytomation IntraStain (Perméabilisation), code K 2311. Ajouter 10 µL de F 7149. Mélanger doucement à l'aide d'un mélangeur vortex pour s'assurer que toutes les cellules sont en suspension. 						

7. Utiliser un anticorps monoclonal non-réactif de même isotype, conjugué au même fluorochrome, en tant que contrôle négatif (voir tableau).
8. Laisser incuber dans l'obscurité, à température ambiante, pendant 15 minutes.
9. Répéter les étapes 4 et 5.
10. Remettre le culot cellulaire en suspension dans un liquide adapté à la cytométrie en flux, par exemple 0,3 mL de paraformaldéhyde 1 % (fixateur) dans du PBS 0,01 mol/L, à 7,4 de pH.
11. Analyser sur un cytomètre en flux.

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

DEUTSCH

Zweckbestimmung Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.
F 7149 ist für den durchflusszytometrischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper reagiert in starkem Umfang mit humanen Plasmazellen (1). Für den Antikörper VS38c wurde der Nachweis erbracht, dass er das humane p63-Protein identifiziert (2, 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 p63 (2).

Einleitung Anti-Human Plasma Cell erkennt das intrazytoplasmatische Antigen p63 (relative Molekülmasse: 64 kDa), das in normalen und neoplastischen Zellen vorliegt (4). p63 ist ein intrazelluläres Transmembranprotein vom Typ II und im rauen endoplasmatischen Retikulum lokalisiert. Die Funktion von p63 ist nicht bekannt, sein ubiquitäres Vorkommen in sekretorischen Zellen und seine Lokalisation im endoplasmatischen Retikulum legt jedoch eine konservierte Rolle bei der Proteinverarbeitung oder bei der Sekretion nahe (2).

Geliefertes Reagenz Das Anti-Human Plasma Cell Conjugate, Code-Nr. F 7149, wurde aus einem gereinigten monoklonalen Mausantikörper hergestellt. Das Konjugat liegt vor in einer gepufferten Lösung mit 1 % bovinem Serumalbumin (BSA) und 15 mmol/L NaN₃, pH 7,2. Jede Flasche ist für 100 Tests ausreichend (10 µL Konjugat für bis 10⁶ Zellen vom Typ HS-Sultan).

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

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F 7149	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X 0927

Immunogen MCF-7 AdR, eine gegen multiple Arzneimittel resistente Mammakarzinom-Zelllinie (1).

Spezifität Anti-Human Plasma Cell, VS38c, wurde anlässlich des Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens vorgelegt und charakterisiert (2). Intrazelluläre Marker werden nicht gruppiert. Anti-Human Plasma Cell, VS38c, markiert normale und neoplastische Plasmazellen in unterschiedlichen Geweben, markiert jedoch nicht Lymphozyten des peripheren Bluts, auch wenn gelegentlich eine schwache Markierung von Monozyten und Neutrophilen beobachtet werden konnte (1). Der Antikörper VS38c markiert außerdem Melanocyten, insbesondere maligne Melanomzellen, eine Reihe von Epithelzellen unterschiedlicher Organe (5) sowie anhand der Knochenmarkbiopsie gewonnene Osteoblasten (4). Sämtlich stark markiert werden Myelom, Plasmazytom und lymphoplasmazytoide Lymphome und ungefähr ein Drittel der großzelligen B-Zell-Lymphome (LBCL) werden schwach markiert. T-Zell-Lymphome testen negativ. Gelegentlich kann eine schwache Markierung von Endothelzellen auftreten (2).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Für geschultes Fachpersonal.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metallazid-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 Produktetikett 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

1. 50 µL (bis 10⁶ Zellen) aus der zu untersuchenden Zellsuspension (Vollblut, Knochenmark oder mononukleäre Zellen) in ein Probenröhrchen pipettieren.
2. 100 µL DakoCytomation IntraStain Reagent A (Fixation), Code-Nr. K 2311, hinzufügen. Vorsichtig in einem Vortex-Mixer mischen, um sicherzustellen, dass die Zellen suspendiert sind.
3. 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.






4. 2 mL PBS zufügen und vorsichtig im Vortex-Mixer mischen.
5. 5 Minuten lang bei 300 x g zentrifugieren, dann den Überstand aspirieren, so dass ungefähr 50 µL Flüssigkeit zurückbleiben.
6. Im Vortex-Mixer gründlich mischen, um sicherzustellen, dass die Zellen suspendiert sind und 100 µL DakoCytomation IntraStain Reagent B (Permeabilization), Code-Nr. K 2311, hinzufügen. 10 µL F 7149 zusetzen. Vorsichtig in einem Vortex-Mixer mischen, um sicherzustellen, dass die Zellen suspendiert sind.
7. Als Negativkontrolle einen nicht reaktiven monoklonalen Antikörper des gleichen Isotyps, konjugiert an dasselbe Fluorochrom, verwenden (s. Tabelle).
8. Im Dunkeln bei Raumtemperatur 15 Minuten lang inkubieren.
9. Schritte 4 und 5 wiederholen.
10. Das Zellpellet 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.
11. 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

1. Turley H, Jones M, Erber W, Mayne K, de Waele M, Gatter K. VS38: a new monoclonal antibody for detecting plasma cell differentiation in routine sections. J Clin Pathol 1994;47:418-22.
2. Turley H, Banham A, Pulford K, Gatter K. BC28.11 B-cell blind panel: antibodies, recognizing the human p63 protein. 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. 245-8.
3. Banham AH, Turley H, Pulford K, Gatter K, Mason DY. The plasma cell associated antigen detectable by antibody VS38 is the p63 rough endoplasmic reticulum protein. J Clin Pathol 1997;50:485-9.
4. Sulzbacher I, Fuchs M, Chott A, Lang S. Expression of VS38 in osteoblasts and stroma cells of bone tumors. Pathol Res Pract 1997;193:613-6.
5. Shanks JH, Banerjee SS. VS38 immunostaining in melanocytic lesions. J Clin Pathol 1996;49:205-7.

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	