

Monoclonal Mouse Anti-Human CD117, c-kit, Clone 104D2

Code No./ Code/ Code-Nr. **C 7244** **APC-Conjugated**
Code No./ Code/ Code-Nr. **R 7145** **RPE-Conjugated**

ENGLISH

Intended use For in vitro diagnostic use.
C 7244 and R 7145 are intended for use in flow cytometry. Anti-CD117, 104D2, is a useful tool for the flow cytometric identification of acute myeloid leukaemia (1), and, generally, antibodies to CD117 are valuable for the classification of leukaemias as they label most myeloid, but rarely lymphoid blast cells (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.

Synonyms for antigen Stem cell factor receptor, mast cell growth factor receptor.

Introduction CD117 is a 145 kDa transmembrane protein which belongs to the class III receptor tyrosine kinase family. The extracellular region consists of five immunoglobulin-like domains where the second and third loops are thought to be involved in ligand binding. The natural ligand for CD117 has been termed stem cell factor, steel factor, or mast cell growth factor (3, 4). CD117 was originally identified as an acute myeloid leukaemia-associated antigen, and was also shown to be a marker for tissue mast cells, haematopoietic stem cells, and progenitor cells in normal human bone marrow. The majority of CD117-positive marrow cells (50-70%) coexpress CD34 and comprise progenitor cells and their precursors of all haematopoietic lineages. Apart from mast cells, CD117 is essentially absent from mature haematopoietic cells. Although CD117 is primarily a marker for non-lymphoid progenitor cells in the haematopoietic system, it is also found on early lymphoid progenitors, and has been reported on some pediatric T-acute lymphoblastic leukaemia (ALL) cell lines, although it seems uncommon in primary ALL. CD117 is also expressed by non-haematopoietic cells/tissues, including melanocytes, embryonic brain, and the reproductive system (3).

Reagent provided The Anti-CD117 conjugates, C 7244 and R 7145, 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 NaN₃, pH 7.2. Each vial contains 100 tests (10 µL of conjugate for up to 10⁶ Hel.92.1.7 cells).
Isotype: IgG1, kappa. Conjugate concentration mg/L: See label on vial.

Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.
R 7145	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928
C 7244	APC (Allophycocyanin)	X 0968

Specificity Anti-CD117, 104D2, was included in the Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte differentiation Antigens, and studies by different laboratories confirmed its reactivity with CD117 (3).

Precautions

- 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

- 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-CD117.
- 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.

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 Utilisation diagnostique in vitro.
Le C 7244 et le R 7145 sont utilisés en cytométrie en flux. L'anti-CD117, 104D2, est un outil très utile pour l'identification par cytométrie en flux de la leucémie myéloïde aiguë (1), et, d'une manière plus générale, les anticorps anti-CD117 constituent un précieux outil dans la classification des leucémies puisqu'ils marquent la plupart des cellules blastiques myéloïdes, mais rarement les cellules blastiques lymphoïdes (2,3). L'interprétation doit être effectuée par un professionnel expert en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques.

Synonymes d'antigène Récepteur du facteur des cellules souches, récepteur du facteur de croissance des mastocytes.

Introduction Le CD117 est une protéine transmembranaire de 145 kDa appartenant à la famille des récepteurs tyrosine kinase de classe III. La région extracellulaire est composée de cinq domaines de type immunoglobuline dont on suppose que les seconde et troisième boucles participent à la fixation du ligand. Le ligand naturel du CD117 a été appelé facteur des cellules souches, SF (Steel Factor), ou facteur de croissance des mastocytes (3, 4). Le CD117 a tout d'abord été identifié comme antigène associé à la leucémie myéloïde aiguë, et on a également mis en évidence ses propriétés à marquer les mastocytes tissulaires, les cellules souches hématopoïétiques, et les cellules souches de la moelle osseuse humaine normale. La majorité des cellules médullaires positives au CD117 (50 à 70%) coexpriment le CD34 et comprennent les cellules souches, ainsi que leurs précurseurs, de toutes les lignées hématopoïétiques. Mastocytes mis à part, le CD117 est essentiellement absent de toutes les cellules hématopoïétiques matures. Bien que le CD117 soit essentiellement un marqueur des cellules souches non-lymphoïdes dans le système hématopoïétique, il est également présent dans les cellules souches lymphoïdes, et on l'a également mis en évidence dans certaines lignées cellulaires de leucémies lymphoblastiques aiguës-T (LLA) pédiatriques, bien qu'il ne soit pas commun à la LLA primaire. Le CD117 est également exprimé par les cellules/tissus non-hématopoïétiques, dont les mélanocytes, le cerveau embryonnaire, et le système de la reproduction (3).

Réactif fourni Les conjugués anti-CD117, le C 7244 et le R 7145, ont été produits à partir d'un Anticorps Monoclonal de Souris purifié. Les conjugués sont fournis sous forme liquide dans un tampon contenant 1% d'albumine de sérum bovin (BSA) et du NaN₃ à 15 mmol/L, pH 7,2. Chaque flacon contient 100 tests (10 µL de conjugué pour jusqu'à 10⁶ cellules Hel.92.1.7).

Isotype: IgG1, kappa. Concentration en conjugué en mg/L: Voir l'étiquette sur le flacon.

Anticorps Code n°	Fluorochrome	Contrôle négatif Code n°
R 7145	RPE (R-phycoérythrine)	X 0928
C 7244	APC (Allophycocyanine)	X 0968

Spécificité L'Anti-CD117, 104D2, a été inclus dans le Sixième Colloque international et la Conférence sur les Antigènes de différenciation des Leucocytes Humains, et des études menées par différents laboratoires ont confirmé sa réactivité avec le CD117 (3).

Précautions d'emploi

- Pour utilisateurs professionnels uniquement.
- Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un composé chimique hautement toxique sous sa forme pure. Bien que n'étant pas classé dans la catégorie des produits dangereux aux concentrations du produit, l'azide de sodium est susceptible de réagir avec le plomb et le cuivre et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination des réactifs, rincer avec de grandes quantités d'eau pour éviter l'accumulation d'azides métalliques dans la tuyauterie.
- Ce produit contient des matières d'origine animale, et doit par conséquent être manipulé comme potentiellement infectieux.

Conservation Stocker à l'obscurité à une température de 2 à 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Dans le cas où les réactifs sont stockés sous d'autres conditions que celles spécifiées, l'utilisateur doit alors vérifier ces conditions. Il n'existe aucun signe apparent indiquant l'instabilité du produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être effectués simultanément avec les spécimens du patient. En cas de coloration imprévue indépendante des procédures de laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est soupçonné, contactez nos services techniques.

Méthode de coloration

- Prélever le sang veineux dans un tube à essai contenant un anticoagulant.
- Isoler les mononucléaires par centrifugation sur un milieu de séparation. Sinon, lyser les hématies après l'étape 6.
- Rincer deux fois les mononucléaires au RPMI 1640 ou au PBS, pH 7,2-7,4.
- Mélanger 100 µL de suspension cellulaire à 10 µL d'Anti-CD117 conjugué à un fluorochrome.
- Utiliser un anticorps monoclonal non-réactif d'isotype identique, et conjugué avec le même fluorochrome, en tant que contrôle négatif (voir tableau).
- Incuber à l'obscurité à 4 °C pendant 30 minutes.
- Rincer deux fois au PBS contenant 2% de BSA. Remettre les cellules en suspension dans un liquide approprié pour cytométrie en flux, comme 0,3 ml d'une solution à 1% de paraformaldéhyde (fixateur) dans du PBS à 0,01 mol/l, pH 7,4.
- Procéder à une analyse dans un cytomètre en flux.

Il est recommandé d'inclure un échantillon de contrôle positif et négatif approprié à chacune des exécutions en tant que contrôle du réactif et de la préparation. Remarquez que les conjugués au fluorochrome sont photosensibles, et les échantillons doivent par conséquent être protégés de la lumière dès la procédure de coloration et jusqu'à l'analyse.

DEUTSCH

Zweckbestimmung Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.
C 7244 und R 7145 sind für den durchflusszytometrischen Gebrauch bestimmt. Anti-CD117, 104D2 hat sich für die durchflusszytometrische Identifizierung von akuter myeloischer Leukämie als nützlich erwiesen (1), und Antikörper gegen CD117 sind generell wertvoll für die Klassifizierung von Leukämien, da sie die meisten myeloischen, aber selten lymphoide Blastenzellen markieren (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 Stammzellenfaktor-Rezeptor, Mastzellen-Wachstumsfaktor-Rezeptor.

Einleitung CD117 ist ein 145 kDa Transmembran-Protein, das zur Tyrosinkinase-Familie, Rezeptor Klasse III, zählt. Die extrazelluläre Region besteht aus fünf immunglobulinähnlichen Domänen, wobei angenommen wird, dass die zweite und die dritte Schleife an der Ligandbindung beteiligt sind. Der natürliche Ligand für CD117 wurde als Stammzellenfaktor, *steel*-Faktor (SLF) oder Mastzellen-Wachstumsfaktor (3, 4) bezeichnet. CD117 wurde ursprünglich als mit Akuter Myeloischer Leukämie assoziiertes Antigen identifiziert und hat sich außerdem als Marker für Gewebemastzellen, hämatopoetische Stammzellen und Progenitorzellen in normalem menschlichem Knochenmark erwiesen. Die Mehrzahl der CD117-positiven Markzellen (50-70 %) koexprimieren CD34 und umfassen Progenitorzellen und deren Vorläufer aus sämtlichen hämatopoetischen Abstammungslinien. Außer Mastzellen fehlt CD117 in der Hauptsache bei reifen hämatopoetischen Zellen. Obwohl CD117 in erster Linie als Marker für nicht lymphoide Progenitorzellen im hämatopoetischen System dient, kann es außerdem auch auf frühen lymphoiden Progenitorzellen auftreten und ist auch auf einigen T-Zelllinien bei akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) bei Kindern nachgewiesen worden, obwohl es bei primärer ALL eher selten zu sein scheint. CD117 wird ebenfalls von nicht-hämatopoetischen Zellen/Geweben exprimiert, einschließlich Melanozyten, embryonaler Gehirnzellen und Zellen/Gewebe des Reproduktionssystems (3).

Geliefertes Reagenz Die Anti-CD117 Konjugate C 7244 und R 7145 stammen von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper. Die Konjugate werden 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 Hel.92.1.7-Zellen).

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

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
R 7145	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928
C 7244	APC (Allophycocyanin)	X 0968

Spezifität Anti-CD117, 104D2, wurde im Kontext des „Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ aufgenommen und Studien in verschiedenen Laboratorien bestätigten seine Reaktivität mit CD117 (3).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Für geschultes Fachpersonal.
- Dieses Produkt enthält Natriumazid (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. 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









- Venöses Blut in ein Antikoagulans enthaltendes Probenröhrchen gewinnen.
- Mononukleäre Zellen durch Zentrifugieren in einem Abtrennungsmittel 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 des fluorochromkonjugierten Anti-CD117 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 Fluoreszenzkonjugate lichtempfindlich sind und dass die Proben während des Färbeprozesses und bis zur Durchführung der Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

References/ Références/ Literatur

- Bahia DMM, Yamamoto M, de Lourdes M, Chauffaille LF, Kimura EYS, Bordin JO, et al. Aberrant phenotypes in acute myeloid leukaemia: a high frequency and clinical significance. *Haematologica* 2001;86:801-6.
- Bühring H-J, Ullrich A, Schaudt K, Müller CA, Busch FW. The product of the proto-oncogene c-kit (P145^{c-kit}) is a human bone marrow surface antigen of hemopoietic precursor cells which is expressed on a subset of acute non-lymphoblastic leukemic cells. *Leukemia* 1991;5:854-60.
- Ashman LK, Cambareri AC, Nguyen L, Bühring H-J. CR5. CD117 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. 816-8.
- Bühring H-J, Ashman LK, Gattei V, Kniep B, Larregina A, Pinto A, et al. CR2.7. Stem-cell factor receptor (p145(c-kit)) summary report (CD117). 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 5th International Workshop and Conference*; 1993 Nov 3-7; Boston, USA. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. p. 1882-8.

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	