

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Plasma Cell/PerCP-Cy5.5**
Clone VS38c

Code PR713

ENGLISH

Intended use	<p>For in vitro diagnostic use.</p> <p>PR713 is intended for use in flow cytometry for detection of plasma cells in peripheral blood. PR713 is intended to be used in a panel with other antibodies. The antibody clone VS38c reacts with normal and neoplastic human plasma cells. Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.</p>
Synonym for antigen	<p>p63 (1, 2).</p>
Summary and explanation	<p>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 (1).</p>
Reagent provided	<p>The Anti-Human Plasma Cell conjugate, PR713, has been produced from a purified monoclonal mouse antibody conjugated to peridinin chlorophyll protein-Cyanine 5.5 (PerCP-Cy5.5).</p> <p>The conjugate is 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 (5 µL of conjugate per test for up to 10⁶ cells).</p> <p><u>Isotype</u>: IgG1, kappa.</p> <p><u>Conjugate concentration</u>: See label on vial.</p>
Immunogen	<p>MCF-7 AdR, a multi-drug resistant breast carcinoma cell line (3).</p>
Specificity	<p>Anti-Human Plasma Cell, VS38c, was submitted to and characterized at the sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigen (1). Anti-Human Plasma Cell, VS38c, labels normal and neoplastic plasma cells in various tissues, but does not label peripheral blood lymphocytes, although some weak labeling of monocytes and neutrophils could occasionally be detected (3). 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 labeled and about a third of large B-cell lymphomas are weakly labeled. T-cell lymphomas are negative. Occasional weak labeling of endothelial cells may occur (1).</p>
Precautions	<ol style="list-style-type: none">1. For in vitro diagnostic use.2. For professional users.3. 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.4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.6. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.
Storage	<p>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 Dako Technical Services.</p>
Procedural notes	<p>It is recommended to include a suitable positive and negative control sample with each run for reagent and preparation control.</p> <p>Note that fluorochrome conjugates are light sensitive, and samples should be protected from light during the staining procedure and until the analysis.</p> <p>It has been observed that PerCP-Cy5.5-conjugates may bind to monocytes, resulting in background staining (6, 7).</p>
Staining procedure	<ol style="list-style-type: none">1. Transfer 50 µL (up to 10⁶ cells) of the cell suspension to be analyzed (anticoagulated whole blood or mononuclear cells) to a test tube.2. Add 100 µL Dako IntraStain Reagent A (Fixation), Code K2311. Mix gently by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension.

3. Incubate at room temperature for 15 minutes.
4. Add 2 mL PBS and mix gently by using a vortex mixer.
5. Centrifuge at 300 x g for 5 minutes, then aspirate the supernatant, leaving approximately 50 µL of fluid.
6. Mix thoroughly by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension and add 100 µL Dako IntraStain Reagent B (Permeabilization), Code K2311. Add 5 µL of PR713. Mix gently by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension.
7. Use a non-reactive monoclonal antibody of the same isotype, and conjugated with the same fluorochrome, as a negative control.
8. Incubate in the dark at room temperature for 15 minutes.
9. Repeat steps 4 and 5.
10. Resuspend the pellet in an appropriate fluid for flow cytometric analysis, e.g. 0.3 mL PBS, pH 7.4.
11. Analyze on a flow cytometer

FRANÇAIS

Utilisation prévue	<p>Pour utilisation diagnostique in vitro.</p> <p>Le PR713 est destiné à être utilisé en cytométrie en flux pour la détection de plasmocytes dans le sang périphérique. Le PR713 est conçu pour être utilisé dans un panel avec d'autres anticorps. Le clone d'anticorps VS38c réagit avec les plasmocytes humains sains et néoplasiques. Les résultats doivent être interprétés par un professionnel qualifié et tenir compte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques.</p>
Synonyme de l'antigène	p63 (1, 2).
Résumé et explication	<p>Le plasmocyte anti-humain reconnaît l'antigène intracytoplasmique p63 de 64 kDa présent dans les cellules saines et néoplasiques (4). p63 est une protéine transmembranaire intracellulaire de type II localisée dans le réticulum endoplasmique rugueux. La fonction de p63 est inconnue, mais son abondance dans les cellules sécrétoires et sa localisation dans le réticulum endoplasmique suggèrent un rôle conservé dans le traitement ou la sécrétion des protéines (1).</p>
Réactifs fournis	<p>Le conjugué plasmocyte anti-humain, PR713, a été produit à partir d'un anticorps monoclonal de souris purifié conjugué à une péridinine chlorophylle protéine-cyanine 5.5 (PerCP-Cy5.5).</p> <p>Le conjugué est fourni sous forme liquide dans un tampon contenant 1% d'albumine de sérum bovin (BSA) et 15 mmol/l d'azide de sodium (NaN₃) d'un pH de 7,2. Chaque flacon contient du conjugué pour 100 tests (5 µL de conjugué par test pour un maximum de 10⁶ cellules).</p> <p><u>Isotype</u> : IgG1, kappa.</p> <p><u>Concentration des conjugués</u> : Voir l'étiquette sur le flacon.</p>
Immunogène	MCF-7 AdR, une lignée cellulaire de carcinome du sein multi-résistante (3).
Spécificité	<p>Le plasmocyte anti-humain, VS38c, a été soumis et caractérisé lors de la Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigen (Sixième Conférence et Atelier Internationaux sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains) (1). Le VS38c, un plasmocyte anti-humain, marque les cellules plasmiques saines et néoplasiques dans divers tissus, mais ne marque pas les lymphocytes sanguins périphériques, bien que certains faibles marquages de monocytes et de neutrophiles puissent parfois être détectés (3). L'anticorps VS38c marque également les cellules mélanocytaires, en particulier les cellules de mélanome malin, un certain nombre de cellules épithéliales issues de divers organes (5) et ostéoblastes issus de biopsies de moelle osseuse (4). Les lymphomes myélomes, plasmacytomes et lymphoplasmacytoïdes sont fortement marqués et environ un tiers des lymphomes à grands lymphocytes B sont faiblement marqués. Les lymphomes des lymphocytes T sont négatifs. Un marquage faible occasionnel des cellules endothéliales peut se produire (1).</p>
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pour utilisation diagnostique in vitro. 2. Pour utilisateurs professionnels. 3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations. 4. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées. 5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau. 6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.
Conservation	<p>Conserver dans l'obscurité entre 2 et 8°C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, ne pouvant être expliquée par un changement des procédures du laboratoire et en cas de suspicion d'un problème avec l'anticorps, contacter le service technique Dako.</p>

Remarques sur la procédure

Il est recommandé d'inclure un échantillon de contrôle positif et négatif approprié avec chaque cycle en tant que contrôle de réactif et de préparation.

Noter que les conjugués fluorochromes sont photosensibles. Les échantillons doivent être protégés de la lumière pendant la procédure de coloration et jusqu'à l'analyse.

On a constaté que des conjugués à la PerCP-Cy5.5 peuvent se lier à des monocytes, entraînant une coloration de bruit de fond (6, 7).

Procédure de coloration

1. Transférer 50 µl (jusqu'à 10⁶ cellules) de suspension cellulaire à analyser (sang total non coagulé ou cellules mononucléaires) dans un tube à essai.
2. Ajouter 100 µl de Dako IntraStain Reagent A (Fixation), réf. K2311. Mélanger doucement à l'aide d'un mélangeur Vortex pour s'assurer que les cellules sont en suspension.
3. Incuber à température ambiante pendant 15 minutes.
4. Ajouter 2 ml d'une solution saline de tampon phosphate (PBS) et mélanger doucement à l'aide d'un mélangeur Vortex.
5. Centrifuger à 300 g pendant 5 minutes, puis aspirer le surnageant. Laisser environ 50 µl de liquide.
6. Bien mélanger à l'aide d'un mélangeur Vortex pour s'assurer que les cellules sont bien en suspension et ajouter 100 µl de Dako IntraStain Reagent B (Permeabilization), réf. K2311. Ajouter 5 µl de PR713. Mélanger doucement à l'aide d'un mélangeur Vortex pour s'assurer que les cellules sont en suspension.
7. Utiliser un anticorps monoclonal non réactif de même isotype et conjugué avec le même fluorochrome comme contrôle négatif.
8. Incuber dans l'obscurité à température ambiante pendant 15 minutes.
9. Répéter les étapes 4 et 5.
10. Remettre le culot en suspension dans un liquide approprié pour l'analyse cytométrique en flux, p. ex. 0,3 ml de PBS, d'un pH de 7,4.
11. Analyser à l'aide d'un cytomètre en flux.

DEUTSCH**Verwendungszweck**

Zur In-vitro-Diagnostik.

PR713 ist zur Verwendung in der Durchflusszytometrie zum Nachweis von Plasmazellen in peripherem Blut bestimmt. PR713 ist für die Verwendung in einem Panel mit weiteren Antikörpern vorgesehen. Der Antikörperklon VS38c reagiert mit normalen und neoplastischen humanen Plasmazellen. Die Ergebnisse müssen von einem qualifizierten Experten unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten ausgewertet werden.

Synonym für das Antigen

p63 (1, 2).

Zusammenfassung und Erklärung

Anti-humane Plasmazellen erkennen das intrazytoplasmatische Antigen p63 von 64 kDa, das in normalen und neoplastischen Zellen vorhanden ist (4). p63 ist ein intrazelluläres Typ-II-Transmembran-Protein, das im rauen endoplasmatischen Retikulum lokalisiert ist. Die Funktion von p63 ist unbekannt, aber sein Auftreten in großer Anzahl in Sekretzellen und die Lokalisierung im endoplasmatischen Retikulum deuten auf eine schützende Rolle bei der Proteinverarbeitung oder Sekretion hin (1).

Geliefertes Reagenz

Das Anti-humane Plasmazellen-Konjugat PR713 stammt von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper, der mit Peridinin-Chlorophyll-Protein-Zyanin 5.5 (PerCP-Cy5.5) konjugiert wurde.

Das Konjugat wird in flüssiger Form in einem Puffer mit 1% Rinderserum-Albumin (BSA) und 15 mmol/L NaN₃, pH 7,2, geliefert. Das Konjugat in jedem Behälter ist ausreichend für 100 Tests (5 µL Konjugat pro Test für bis zu 10⁶ Zellen).

Isotyp: IgG1, Kappa.

Konjugatkonzentration: Siehe Behälteretikett.

Immunogen

MCF-7 AdR, eine multiresistente Brustkarzinomzelllinie (3).

Spezifität

Anti-humane Plasmazelle, VS38c, wurde für die Konferenz „Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ eingereicht (1). Anti-humane Plasmazellen, VS38c, markieren normale und neoplastische Plasmazellen in verschiedenen Geweben. Sie markieren allerdings keine Lymphozyten aus peripherem Blut, obwohl gelegentlich eine schwache Markierung von Monozyten und Neutrophilen nachgewiesen werden kann (3). Der VS38c-Antikörper markiert auch melanozytische Zellen, insbesondere maligne Melanomzellen, eine Reihe von Epithelzellen aus verschiedenen Organen (5) und Osteoblasten aus Knochenmarkbiopsien (4). Myelome, Plasmazytome und lymphoplasmazytoide Lymphome werden stark markiert und etwa ein Drittel der großzelligen B-Zell-Lymphome werden schwach markiert. T-Zell-Lymphome sind negativ. Gelegentlich kann eine schwache Markierung von Endothelzellen auftreten (1).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. 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.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2-8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeprobe mitgeführt werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und ein Problem mit dem Antikörper vermutet wird, ist unser technischer Kundendienst zu verständigen.

Verfahrensanleitung

Es wird empfohlen, als Kontrolle für das Reagenz und das Präparat bei jedem Testdurchlauf eine geeignete Positiv- und Negativkontrollprobe mitlaufen zu lassen.

Bitte beachten, dass Fluorochrom-Konjugate lichtempfindlich sind und die Proben während des Färbeverfahrens und bis zur Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

Es wurde eine mögliche Bindung von PerCP-Cy5.5-Konjugaten an Monozyten, die zu einer Hintergrundfärbung führen kann, beschrieben (6, 7).










Färbeverfahren

1. 50 µL (bis zu 10⁶ Zellen) der zu analysierenden Zellsuspension (antikoaguliertes Vollblut oder mononukleare Zellen) in ein Teströhrchen geben.
2. 100 µL Dako IntraStain Reagenz A (Fixierung), Code-Nr. K2311, zugeben. Mit einem Vortex-Mischer vorsichtig mischen, um zu gewährleisten, dass die Zellen suspendiert sind.
3. Bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubieren.
4. 2 mL PBS zugeben und mit einem Vortex-Mischer vorsichtig mischen.
5. 5 Minuten bei 300 x g zentrifugieren und anschließend den Überstand absaugen. Dabei etwa 50 µL Flüssigkeit übriglassen.
6. Vorsichtig mit einem Vortex-Mischer mischen, um zu gewährleisten, dass die Zellen suspendiert sind, und 100 µL Dako IntraStain, Reagenz B (Permeabilisierung), Code-Nr. K2311, dazugeben. 5 µL PR713 hinzufügen. Mit einem Vortex-Mischer vorsichtig mischen, um zu gewährleisten, dass die Zellen suspendiert sind.
7. Einen nicht reaktiven monoklonalen Antikörper desselben Isotyps, der auch mit demselben Fluorochrom konjugiert wurde, als Negativkontrolle verwenden.
8. Im Dunkeln bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubieren.
9. Schritte 4 und 5 wiederholen.
10. Das Pellet in einer geeigneten Flüssigkeit, z. B. 0.3 mL PBS, pH 7.4, für die Durchflusszytometrie resuspendieren.
11. Auf einem Durchflusszytometer analysieren.

References/ Bibliographie/ Literaturnachweise

1. 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.
2. 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.
3. 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.
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.
6. van Vugt MJ, van den Herik-Oudijk IE, van de Winkel JGJ. Binding of PE-CY5 conjugates to the human high-affinity receptor for IgG (CD64). Blood 1996;88:2358-61.
7. Shapiro HM. Practical Flow Cytometry, John Wiley and Sons Inc.; 2003. 4th ed. p. 337.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2°C - 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Use by Utiliser avant 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'abri de la lumière (voir la section Conservation) Vor Sonnenlicht schützen (siehe Abschnitt Aufbewahrung)		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung	 EC REP	Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com