

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Plasma Cell
Clone VS38c
Code No./ Code/ Code-Nr. M 7077**
Edition/ Ausgabe 16.12.02

ENGLISH

Intended use	For in vitro diagnostic use. Monoclonal Mouse Anti-Human Plasma Cell, Clone VS38c, is intended for use in immunocytochemistry. The antibody labels normal and neoplastic plasma cells and may be a useful tool in the identification of myeloma and plasmacytoma in bone marrow or other tissues. Additionally it can assist in distinguishing between lymphoplasmacytoid lymphoma and lymphocytic and follicular lymphoma (1). Differential identification is aided by the results from a panel of antibodies. Interpretation must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.
Synonym for antigen	p63 protein (1).
Introduction	Human p63 is a 63 kDa non-glycosylated, reversibly palmitoylated type II transmembrane protein found in plasma cells and epithelium. The p63 protein has a currently unknown function, but because of its homology to both rat and swine proteins, its abundance in secretory cells, and its localization to the rough endoplasmic reticulum, a conserved role in protein processing or secretion is suggested (1).
Reagent provided	Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant dialysed against 0.05 mol/L Tris/HCl, pH 7.2, and containing 15 mmol/L NaN ₃ . <u>Clone:</u> VS38c (2). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Mouse IgG concentration:</u> see label on vial.
Immunogen	Membrane preparation of MCF-7 AdR cells (breast carcinoma cell line) (2).
Specificity	Anti-Human Plasma Cell, VS38c, was clustered as anti-p63 protein at the Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens held in Kobe in 1996. The epitope was localized to the C-terminal 419 residues (1). In Western blotting of cell lysates from plasma and epithelial cell lines under reducing conditions, the antibody labels a band of 64 kDa, corresponding to the p63 protein (1, 2).
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 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 user must verify the conditions. 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.
Specimen preparation	<u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of tissues with heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, High pH, code No. S 3308, or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. However, Dako Target Retrieval Solution, code No. S 1700, or 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0 and pre-treatment of tissues with proteinase K were found inefficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunocytochemical staining procedure. <u>Frozen sections and cell preparations:</u> The antibody can be used for labelling frozen sections (1, 2).
Staining procedure	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human Plasma Cell, code No. M 7077, may be used at a dilution range of 1:50-1:100 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval Solution, High pH, code No. S 3308, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation method, and should be determined by each individual laboratory. The recommended negative control is Dako Mouse IgG1, code No. X 0931, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody. Unless the stability of the diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, it is recommended to dilute these reagents immediately before use, or dilute in Dako Antibody Diluent, code No. S 0809. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimen. <u>Visualization:</u> DAKO LSAB™+/HRP kit, code No. K 0679, and DAKO EnVision™+/HRP kits, code Nos. K 4004 and K 4006, are recommended. For frozen sections and cell preparations, the Dako APAAP kit, code No. K 0670, is a good alternative if endogenous peroxidase staining is a concern. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Product-specific limitations	The p63 protein is not plasma cell specific and the antibody has been shown to label a varying proportion of both benign naevi and malignant melanomas in a diffuse cytoplasmic pattern (3). Additionally it labelled 36/50 neuroendocrine tumours of various organs (4). In frozen sections weak endothelial labelling can occasionally be detected (2).
Performance characteristics	<p>Cells labelled by the antibody show staining of the cell membrane and/or cytoplasm.</p> <p><u>Normal tissues:</u> In frozen and formalin-fixed tissues, plasma cells are strongly labelled, while peripheral blood lymphocytes are negative although some weak labelling of monocytes and neutrophils can occasionally be detected in frozen sections. Epithelial cell labelling observed in frozen sections is considerably reduced or absent in formalin-fixed tissue. Unidentified, strongly labelled spindle cells within the stroma of some tissues were also observed (2).</p> <p><u>Abnormal tissues:</u> In formalin-fixed tissue, the antibody labelled 7/7 myelomas, 4/4 plasmacytomas, 7/7 lymphoplasmacytoid lymphomas, and weakly 12/38 B-cell large cell non-Hodgkin's lymphomas. None of 12 chronic lymphocytic leukaemias, 6 centroblastic centrocytic lymphomas, 4 hairy cell leukaemias, and 9 T-cell non-Hodgkin's lymphomas were labeled (2).</p>

FRANÇAIS

Intérêt	Pour diagnostic in vitro. Monoclonal Mouse Anti-Human Plasma Cell, Clone VS38c, est destiné pour un usage en immunocytométrie. L'anticorps marque les plasmocytes normaux et néoplasiques et peut être un moyen utile dans l'identification de myélomes et plasmacytomes dans la moelle osseuse ou autres tissus. Il peut aussi assister dans la distinction entre les lymphomes lymphoplasmacytoides et lymphomes lymphocytiques et folliculaires. (1). L'identification différentielle s'appuie sur les résultats obtenus à l'aide d'un panel d'anticorps. L'interprétation des résultats doit être entreprise dans le contexte de l'histoire clinique du patient et des autres examens diagnostics par un professionnel certifié.
Synonyme pour l'antigène	p63 protein (1).
Introduction	La protéine humaine p63 est une protéine 63 kDa transmembranaire non-glycosylée, réversiblement palmitoylée du type II présente dans les plasmocytes et l'épithélium. La fonction de la protéine p63 est actuellement inconnue, mais dûe à son homologie aux deux protéines de rat et du porc, son abondance dans les cellules sécrétoires et sa localisation au réticulum endoplasmique rugueux, un rôle conservé dans le traitement ou la sécrétion de protéines est suggéré (1).
Réactif fourni	L'anticorps de souris monoclonale fourni à l'état liquide comme culture cellulaire surnageante dialysée contre 0,05 mol/L Tris/HCl, pH 7.2, et contenant 15 mmol/L NaN ₃ . <u>Clone:</u> VS38c (2). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Concentration IgG de Souris:</u> Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.
Immunogène	Préparation membranaire de cellules MCF-7 AdR (lignée cellulaire du carcinome du sein) (2).
Spécificité	Plasmocyte Anti-Humain, VS38c, était groupé comme protéine anti-p63 à la Sixième Conférence-Atelier Internationale sur les Antigènes de Différentiation des Leucocytes Humains tenue à Kobe en 1996. L'épitope était localisé au Terminal-C des 419 résidus (1). En transfert de Western des lysats cellulaires de lignées cellulaires plasmatiques et épithéliales sous conditions réduites, l'anticorps marque une bande de 64 kDa, correspondant à la protéine p63 (1, 2).
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pour utilisateurs professionnels. 2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), 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	Stocker entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de preemption sur le flacon. Dans le cas où les réactifs sont conservés sous d'autres conditions que celles spécifiées, les 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.
Préparation de l'échantillon	<u>Coupes en paraffine:</u> L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Le prétraitement des tissus par restauration de l'épitope par la chaleur est requis. Des résultats optimaux sont obtenus avec Dako Target Retrieval Solution, à pH élevé, code S 3308, ou en tampon Tris 10 mmol/L, 1 mmol/L EDTA, à 9,0 de pH. Cependant, Dako Target Retrieval Solution, code S 1700, ou 10 mmol/L tampon citrate, pH 6.0 et le prétraitement des tissus avec de la protéinase K se sont avérés inefficaces. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure d'immunomarquage immunocytochimique suivante. <u>Coupes congelées et préparations cellulaires:</u> L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes en congélation (1, 2).
Procédure d'immunomarquage	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human Plasma Cell, code M 7077, peut être dilué entre 1:50 et 1:100 pour application de coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol de l'amygdale humaine pendant 20 minutes de démasquage de l'épitope induite par la chaleur dans Dako Target Retrieval, pH élevé, code S 3308 pendant 30 minutes d'incubation à température ambiante avec l'anticorps primaire. Les conditions optimales peuvent varier selon l'échantillon et la méthode de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire particulier. Le contrôle négatif requis est Dako Mouse

IgG1, code X 0931, dilué à la même concentration de l'IgG de souris que celle de l'anticorps primaire. A moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif ait été établie dans la procédure d'immunomarquage réelle, il est recommandé de diluer ces réactifs juste avant leur emploi, ou de les diluer dans Dako Antibody Diluent, code S 0809. Les contrôles positifs et négatifs doivent être opérés simultanément avec l'échantillon du patient.

Révélation: DAKO LSAB™+/HRP kit, code K 0679, et DAKO EnVision™+/HRP kits, codes K 4004 et K 4006 sont requis. Pour les coupes congelées et préparations cellulaires, Dako APAAP kit, code K 0670, est une alternative valable si le marquage endogène peroxydasicque est à craindre. Suivre la procédure inclue avec le kit de révélation choisi .

Limitations spécifiques du produit

La protéine p63 n'est pas spécifique au plasmocyte et l'anticorps a été identifié comme marqueur d'une proportion variée de naevi bénins et mélanomes malins dans un modèle cytoplasmique diffus (3). En plus, il a marqué 36/50 de tumeurs neuroendocrinianes d'organes variés (4). Dans les coupes en congélation un marquage endothelial faible peut parfois être détecté (2).

Performances

Les cellules marquées par l'anticorps montrent un marquage de la cellule membranaire et/ou cytoplasme.

Tissus normaux: Dans les tissus en congélation fixés au formol, les plasmocytes sont fortement marqués, alors que les lymphocytes sanguins périphériques sont négatifs malgré qu'un faible marquage de monocytes et neutrophiles, peut parfois être détecté dans les coupes en congélation. Le marquage des cellules épithéliales observé dans les coupes en congélation est considérablement réduit ou absent dans les tissus fixés au formol. Les cellules fusiformes fortement marquées non identifiées dans le stroma de certains tissus étaient aussi observées. (2).

Tissus anormaux: Dans les tissus fixés au formol, l'anticorps a marqué 7/7 de myélomes, 4/4 de plasmacytomes, 7/7 de lymphomes lymphoplasmacytoides, et faiblement 12/38 de lymphomes non-Hodgkiniens à grande cellule de lymphocyte B. Aucune des 12 leucémies lymphocytiques chroniques, des 6 lymphomes centroblastiques centrocytiques, des 4 leucémies à tricholeucocyte, et des 9 lymphomes à lymphocytes T non-Hodgkiniens n'étaient marqués (2).

DEUTSCH

Zweckbestimmung

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

Monoclonal Mouse Anti-Human Plasma Cell, Clone VS38c, ist für den immunzytochemischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper markiert normale und neoplastische Plasmazellen und kann für die Identifizierung von Myelomen und Plasmazytomen im Knochenmark und anderen Geweben von Nutzen sein. Zusätzlich kann er bei der Abgrenzung eines lymphoplasmazytoiden Lymphoms von einem lymphozytischen und folliculären Lymphom hilfreich sein (1). Die differentielle Identifizierung wird durch die mit einem Antikörper-Panel erhaltenen Resultate unterstützt. 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

p63-Protein (1).

Einleitung

Humanes p63 ist ein 63 kDa schweres, nicht glykosyliertes, reversibel palmitoyliertes Transmembranprotein vom Typ II, das in Plasmazellen und im Epithel vorkommt. Die Funktion des p63-Proteins ist gegenwärtig unbekannt. Aufgrund seiner Homologie sowohl mit Ratten- als auch Schweineproteinen, seines überreichen Vorkommens in sekretorischen Zellen sowie seiner Lokalisation im rauen endoplasmatischen Retikulum, wird jedoch angenommen, dass er eine konservierende Rolle bei der Proteinverarbeitung oder -sekretion spielt (1).

Geliefertes Reagenz

Der monoklonale Mausantikörper wird in flüssiger Form als Zellkulturüberstand geliefert, wurde gegen 0,05 mol/l Tris/HCl, pH-Wert 7,2 dialysiert und enthält 15 mmol/l NaN₃.

Klon: VS38c (2). Istotyp: IgG1, Kappa.

Maus-IgG-Konzentration: Siehe Produktetikett.

Immunogen

Membranpräparat aus MCF-7 AdR-Zellen (Zelllinie des Mammakarzinoms) (2).

Spezifität

Anti-Human Plasma Cell, VS38c wurde auf dem „Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (Kobe 1996) als Anti-p63-Protein eingestuft. Das Epitop wurde in C-terminalen 419-Resten lokalisiert (1).

Im Westernblot von Zelllysaten aus Plasma- und Epithelzelllinien unter reduzierenden Bedingungen, markiert der Antikörper eine Bande von 64 kDa, die dem p63-Protein entspricht (1, 2).

Hinweise und

Vorsichtsmaßnahmen

1. Für geschultes Fachpersonal.

2. 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.

3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.

Lagerung

Bei 2 – 8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Fläschchen 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 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.

Probenvorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, formalinfixierten histologischen Schnitten genutzt werden. Eine Vorbehandlung der Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Resultate werden erzielt mit Dako Target Retrieval Solution, pH 9,9, Code-Nr. S 3308, oder mit 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0. Die Nutzung von Dako Target Retrieval Solution, pH 6,1, Code-Nr. S 1700, oder die Gewebevorbehandlung mit Proteinase K hat sich als ineffizient erwiesen. Während der Gewebevorbehandlung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen Färbepräzedenz dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und zytologische Präparate: The antibody can be used for labelling frozen sections (1, 2).

Färbepräzedenz

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human Plasma Cell, Code-Nr. M 7077, kann bei einem Verdünnungsbereich von 1:50-1:100 eingesetzt werden, wenn es für formalinfixierte, paraffineingebettete Schnitte der menschlichen Tonsille genutzt wird und wenn 20 Minuten lang die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit Dako Target Retrieval Solution, pH 9,9, Code-Nr. S 3308, gefolgt von 30 Minuten Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur, durchgeführt wird. Die optimalen Bedingungen schwanken je nach Probe und Methode der Probenvorbereitung und sollten von jedem einzelnen Labor bestimmt werden. Die empfohlene Negativkontrolle ist Dako Mouse IgG1, Code-Nr. X 0931, das auf dieselbe murine IgG-Konzentration wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Solange mit dem eigentlichen Testsystem die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle nicht sichergestellt ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor Gebrauch zu verdünnen oder die Verdünnung mit Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S 0809, vorzunehmen. Es sollten die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden.

Visualisierung: Folgende Kits werden empfohlen: DAKO LSAB™+/HRP-Kit, Code-Nr. K 0679 und DAKO EnVision™+/HRP-Kits, Code-Nr. K 4004 und K 4006. Falls bei Gefrierschnitten und Zellpräparaten Probleme mit endogener Peroxidasefärbung auftreten, bietet der Dako APAAP Kit, Code-Nr. K 0670, eine gute Alternative. Es ist dem Verfahren zu folgen, das in den Anleitungen des genutzten Kits für die Visualisierung erläutert wird.

Produktspezifische Beschränkungen

Das p63-Protein ist nicht plasmazellspezifisch, und es konnte gezeigt werden, dass der Antikörper einen schwankenden Anteil sowohl benigner Naevi als auch maligner Melanome in einem diffusen zytoplasmatischen Muster markiert (3). Darüber hinaus markierte er 36/50 neuroendokrine Tumore verschiedener Organe (4). Gelegentlich kann bei Gefrierschnitten eine schwache Markierung des Endothels festgestellt werden (2).

Leistungseigenschaften

Durch den Antikörper markierte Zellen zeigen eine Färbung des Zytoplasmas und/oder der Zellmembran.

Normalgewebe: Plasmazellen werden bei formalinfixierten gefrorenen Geweben stark markiert, während periphere Lymphozyten dagegen negativ testen, obwohl gelegentlich eine schwache Markierung von Monozyten und Neutrophilen bei gefrorenen Schnitten festgestellt werden kann. Die Markierung von Epithelzellen, die bei Gefrierschnitten beobachtet wurde, ist erheblich reduziert oder fehlt bei formalinfixierten Geweben. Weiterhin wurden nicht identifizierte, stark markierte Spindelzellen innerhalb des Stromas einiger Gewebe beobachtet (2).

Anomales Gewebe: Bei formalinfixierten Geweben markierte der Antikörper 7/7 Myelome, 4/4 Plasmazytome und 7/7 lymphoplasmazytoiden Lymphome. Weitere 12/38 Großzell-Non-Hodgkin-Lymphome der B-Zelllinie wurden schwach markiert. Die folgenden Fälle wurden vom Antikörper nicht markiert: 12 chronische lymphozytische Leukämien, 6 zentroblastisch-zentrozytische Lymphome, 4 Haarzell-Leukämien und 9 Non-Hodgkin-Lymphome der T-Zelllinie (2).

References/ Références/ Literatur

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. 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.
3. Shanks JH, Banerjee SS. VS38 immunostaining in melanocytic lesions. J Clin Pathol 1996;49:205-7.
4. Banerjee SS, Shanks JH, Hasleton PS. VS38 immunostaining in neuroendocrine tumours. Histopathology 1997;30:256-9.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	2°C → 8°C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Manufacturer Fabricant Hersteller
IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	LOT Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis	