

**Monoclonal Mouse
Anti-Human CD61,
Platelet Glycoprotein IIIa
Clone Y2/51
Code No./ Code/ Code-Nr. M 0753
Edition/ Ausgabe 01.03.04**

ENGLISH

Intended use	For in vitro diagnostic use. Monoclonal Mouse Anti-Human CD61, Clone Y2/51, is intended for use in immunocytochemistry. CD61 is a selective marker of platelets and platelet precursors, and antibodies to CD61 may be of value for immunophenotyping of megakaryoblastic leukaemias, and for the identification of Glanzmann's thrombastenia (1). 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	CD61A, GPIIb/IIIa, β 3 integrin chain, β -3 integrin (1).
Introduction	CD61 has a molecular mass of approximately 110 KDa and is the common β -subunit in the CD41/CD61 and in the CD51/CD61 complexes, both of which are noncovalently associated heterodimers. The complexes require divalent cations for complex integrity and receptor functions (1). The CD41/CD61 complex appears early in megakaryocyte maturation (2). The activated CD41/CD61 complex is a receptor for von Willebrand factor, soluble fibrinogen and fibronectin (1) and plays a central role in platelet activation and aggregation (3). The CD51/CD61 plays a role in tumour metastasis and adenoviral infection (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 Na ₃ N ₃ , <u>Clone:</u> Y2/51. <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Mouse IgG concentration:</u> See label on vial.
Immunogen	Phytohemagglutinin (PHA)-stimulated peripheral blood cells (4).
Specificity	Anti-CD61, Y2/51, was included in the Fourth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD61 (5). Anti-CD61, Y2/51, labels platelets in peripheral blood and bone marrow and it also reacts with megakaryocytes (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 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.
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 recommended. Optimal results are obtained with, 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. 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, fixed cell smears and fixed cytocentrifuge smears.
Staining procedure	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-CD61, code No. M 0753, may be used at a dilution range of 1:50-1:100, in the DAKO EnVision™+ system when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval solution, code No. S 1700, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. Monoclonal Mouse Anti-CD61, code No. M 0753, may be used at a dilution range of 1:50-1:100, in the APAAP technique, when applied on frozen sections, fixed cell smears and fixed cytocentrifuge smears, using 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. <u>Automation:</u> The antibody is well-suited for immunocytochemical staining using automated platforms, such as the Dako Autostainer.
Performance characteristics	Cells labelled by the antibody display staining confined to the cell surface membrane. In peripheral human lymphoid tissue and in normal human tonsil, the antibody shows labelling pattern corresponding to reactivity restricted to platelets.

FRANÇAIS

Intérêt

Pour diagnostic in vitro.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD61, Clone Y2/51, est destiné pour un usage en immunocytochimie. Le CD 61 est un marqueur sélectif des plaquettes et des précurseurs de plaquettes, et les anticorps au CD61 peuvent être utiles au phénotypage immunologique des leucémies mégacaryoblastiques et à l'identification de la thrombasthénie de Glanzmann (1). 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.

Synonymes de l'antigène

CD61A, GPIIb/IIIa, chaîne intégrine β-3, intégrine β-3 (1)

Introduction

CD61 a une masse moléculaire d'environ 110 KDa et est la sous-unité β commune dans le complexe CD41/CD61 ainsi que dans le complexe CD51/CD61, qui sont tous deux des hétérodimères associés de façon non covalente. Les complexes exigent des cations divalents pour les fonctions d'intégrité du complexe et de récepteur (1).

Le complexe CD41/CD61 apparaît de manière précoce dans la maturation du mégacaryocyte (2). Le complexe CD41/CD61 activé est un récepteur du facteur von Willebrand, du fibrinogène et de la fibronectine solubles (1), et joue un rôle central dans l'activation et l'agrégation des plaquettes (3).

Le complexe CD51/CD61 joue un rôle dans les métastases tumorales et l'infection adénovirale (1).

Réactif fourni

L'anticorps monoclonal de souris 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 NaN₃.

Clone: Y2/51. Isotype: IgG1, kappa.

Concentration IgG de souris: Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.

Immunogène

Cellules de sang périphérique stimulées à la phytohémagglutinine (PHA) (4).

Spécificité

L'Anti-CD61, Y2/51, a été inclus dans la <Fourth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens>, et des études menées par différents laboratoires ont confirmé sa réactivité avec le CD61 (5).

Anti-CD61, Y2/51, marque les plaquettes du sang périphérique et de la moelle osseuse et montre également une réaction aux mégacaryocytes (4).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Le produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement毒ique sous forme pure. 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 dépos 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.

Conservation

Stocker entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption 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.

Préparation de l'échantillon

Coupes en paraffine: L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Le prétraitement des tissus par desquamage des épitopes par la chaleur est requis. Un résultat optimal est obtenu en utilisant DakoTarget Retrieval Solution, pH élevé, code S 1700 ou 10 mmol/L de Tampon citrate, pH 6,0 et un prétraitement des tissus à la protéinase K. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure d'immunomarquage immunocytochimique suivante.

Coupes congelées et préparations cellulaires: L'anticorps peut être utilisé pour le marquage de coupes congelées, de préparations de frottis fixes et de cytopspines.

Procédure d'immunomarquage

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-CD61, code M 0753, peut être dilué entre 1:50 et 1:100 dans DAKO EnVision™ + pour application sur des coupes en paraffine, fixées au formol de l'amygdale humaine, pendant 20 minutes de desquamation de l'épitope par la chaleur avec Dako Target Retrieval solution, code S 1700, et 30 minutes d'incubation à température ambiante avec l'anticorps primaire.

Monoclonal Mouse Anti-CD61, code M 0753, peut être dilué entre 1:50 et 1:100 avec la technique APAAP, pour application sur des coupes congelées, des préparations de cellules fixées et des cytopspins fixés, 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 en congélation et préparations cellulaires, Dako APAAP kit, code K 0670, est une alternative valable si le marquage endogène péroxydasaïque est à craindre. Suivre la procédure inclue avec le kit de révélation choisi.

Automatisation: L'anticorps est bien adapté au marquage immunocytochimique sur des plates-formes automatisées comme le Dako Autostainer.

Performances

Les cellules marquées par l'anticorps révèlent un marquage limité à la membrane de la surface cellulaire.

Dans les tissus lymphoïdes périphériques humains de l'amygdale humaine normale, l'anticorps montre un marquage de modèle correspondant à une réactivité limitée aux plaquettes.

DEUTSCH

Zweckbestimmung	Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen. Monoclonal Mouse Anti-Human CD61, Clone Y2/51, ist für den immunzytochemischen Gebrauch bestimmt. CD61 ist ein selektiver Marker der Thrombozyten- und Thrombozytenvorläuferzellen. Antikörper gegen CD41 können für die Immunphänotypisierung der Megakaryozytenleukämien sowie für die Erkennung der Thrombasthenie (Glanzmann-Naegle) von Nutzen sein (1). 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	CD61A, GPIIb/IIIa, β3-Integrinkette, β-3-Integrin (1).
Einleitung	CD61 hat ein Molekulargewicht von circa 110 kDa und ist die normale β-Untereinheit in den CD41/CD61- und in den CD51/CD61-Komplexen, die beide nicht kovalent gebundene Heterodimer sind. Die Komplexe benötigen für die Komplexintegrität und die Rezeptorfunktionen zweiwertige Kationen (1). Der CD41/CD61-Komplex erscheint in den frühen Stadien der Megakaryozytenreifung (2). Der aktivierte CD41/CD61-Komplex ist ein Rezeptor für den von Willebrand-Faktor, lösliches Fibrinogen und Fibronektin (1) und spielt eine zentrale Rolle bei Thrombozytenaktivierung und -aggregation (3). Das CD51/CD61 spielt eine Rolle bei Tumormetastasen und adenoviralen Infektionen (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 NaN ₃ . <u>Klon:</u> Y2/51. <u>Istotyp:</u> IgG1, Kappa. <u>Maus-IgG-Konzentration:</u> Siehe Produktetikett.
Immunogen	Phytohämagglutinin (PHA)-stimulierte periphere Blutzellen (4).
Spezifität	Anti-CD61, Y2/51, wurde Kontext des „Fourth International Workshop and Conference on Human Human Leucocyte Differentiation Antigens“ aufgenommen und Studien in einigen Laboratorien bestätigten seine Reaktivität mit CD61 (5). Anti-CD61, Y2/51, weist Thrombozyten in peripherem Blut und Knochenmark nach und reagiert außerdem mit Megakaryozyten (4).
Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen	1. Für geschultes Fachpersonal. 2. Dieses Produkt enthält Natrium-Azid (NaN ₃), 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. 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.
Probenvorbereitung	<u>Paraffinschnitte:</u> Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingegebetteten, formalinfixierten histologischen Schnitten genutzt werden. Es wird eine Vorbehandlung der Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung empfohlen. Die Nutzung von Dako Target Retrieval Solution, pH 6,1, Code-Nr. S 1700, oder 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6,0, und die Gewebevorbehandlung mit Proteinase K erbringt optimale Resultate. Während der Gewebevorbehandlung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen Färbeprözedur dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen. <u>Gefrierschnitte und zytologische Präparate:</u> Der Antikörper kann für die Markierung von Gefrierschnitten, fixierten Zellabstrichen und fixierten Zytozentrifugenpräparaten verwendet werden.
Färbeprözedur	<u>Verdünnung:</u> Monoclonal Mouse Anti-CD61, code No. M 0753 kann im DAKO EnVision™+ System bei einem Verdünnungsbereich von 1:50-1:100 eingesetzt werden, wenn es für formalinfixierte, paraffineingegebettete Schnitte der menschlichen Tonsille genutzt wird und wenn 20 Minuten lang die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit Dako Target Retrieval Solution, pH 6,1, Code-Nr. S 1700, gefolgt von 30 Minuten Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur, durchgeführt wird. Monoclonal Mouse Anti-CD61, Code-Nr. M 0753, kann bei einer Verdünnung von 1:50 bis 1:100 mit der APAAP-Technik verwendet werden, wenn die Verwendung bei Gefrierschnitten, fixierten Zellabstrichen und fixierten Zytozentrifugenpräparaten erfolgt und die Inkubation mit dem primären Antikörper 30 Minuten lang 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. <u>Visualisierung:</u> 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. <u>Automatisierung:</u> Der Antikörper ist gut für das immunzytochemische Färben unter Nutzung automatisierter Plattformen wie beispielsweise des „Autostainer“ von Dako geeignet.
Leistungseigenschaften	Durch den Antikörper markierten Zellen zeigen auf die Zelloberflächenmembran begrenzte Färbung. Im peripheren humanen lymphoiden Gewebe und bei der normalen humanen Tonsille zeigt der Antikörper ein Markierungsmuster, das der auf Thrombozyten beschränkten Reaktivität entspricht.

References/ Références/ Literatur

1. Sun Q-H, Newman PJ. CD Guide. CD61. 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. 810.
2. Vinci G, Tabilio A, Deschamps JF, van Haeke D, Henri A, Guichard J, et al. Immunological study of *in vitro* maturation of human megakaryocytes. Br J Haematol 1984;56:589-605.
3. Nachman RL, Leung LLK. Complex formation of platelet membrane glycoproteins IIb and IIIa with fibrinogen. J Clin Invest 1982;69:263-9.
4. Gatter KC, Cordell JL, Turley H, Herety A, Kieffer N, Anstee DJ, et al. The immunohistological detection of platelets, megakaryocytes and thrombi in routinely processed specimens. Histopathology 1988; 13:257 -67.
5. von dem Borne AEG, Modderman PW, Admiraal LG, Nieuwenhuis HK. Joint report of the platelet section. P1: Platelets antibodies, the overall results. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, et al., editors. Leucocyte typing IV. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 4th International Workshop and Conference; 1989 Feb 21-25; Vienna, Austria. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1989. p 951-66.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 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	 Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis	