

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
CD105, Endoglin
Clone SN6h**

ENGLISH
Code M3527

Intended use

For In Vitro Diagnostic Use.

Synonym

GP160

Summary and explanation

Endoglin is a Type I transmembrane protein which is highly expressed on human vascular endothelial cells. Up-regulation of endoglin expression has been demonstrated in tumor vasculature and proliferating cells, suggesting that it is a proliferation-associated endothelial cell marker.^{2,3} Endoglin exists as an O- and N-glycosylated homodimer of 95 kD subunits and was designated CD105 at the Fifth International Workshop on Leucocyte Differentiation Antigens (Boston).⁴

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Anti-endoglin, SN6h, is a mouse monoclonal antibody supplied in liquid form as tissue culture supernatant (containing fetal bovine serum) dialyzed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 and 0.015 mol/L sodium azide. Contains stabilizing protein.

Clone: SN6h¹ Isotype: IgG₁, kappa
Mouse IgG concentration mg/L: See label on vial.

Immunogen

Purified CP160 from cell membrane glycoproteins of fresh non-T/non-B acute lymphoblastic leukemia cells¹

Specificity

Endoglin has been demonstrated to be a component of the transforming growth factor (TGF) β receptor system in human umbilical vein endothelial cells and binds TGF β 1 and β 3 with high affinity, but not TGF β 2.^{4,5} Monoclonal mouse anti-endoglin, SN6h, was originally described as reacting with GP160, a human leukemia-associated cell surface glycoprotein,^{1,6} which was later identified as endoglin.⁷

Materials required, but not supplied

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* and/or the detection system instructions.

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, NaN₃ 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.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused reagents should be disposed of according to local, State, and Federal regulations.

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 Dako Technical Support.

Staining procedure

Follow the recommended procedure for the detection system selected.

Specimen preparation

Paraffin Sections

Anti-endoglin, SN6h, can be used on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. In order for this antibody to perform optimally on paraffin-embedded tissues, a high sensitivity detection system is required, such as CSA (code K1500) or LSAB+ HRP (code K0679). Monoclonal anti-endoglin, SN6h, may be used at a dilution of 1:2000 in the CSA detection system, determined on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. When using the CSA detection system, pretreatment of tissue with proteolytic enzymes is not recommended.

Anti-endoglin, SN6h, may also be used at a dilution of 1:5 to 1:10 with other high sensitivity detection systems such as the LSAB+ HRP method. Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections with proteolytic enzymes should be performed prior to staining. When using anti-endoglin with this detection system, one may observe a relative decrease in sensitivity compared to results obtained with the CSA system. These recommended dilutions are guidelines only, optimal dilutions should be determined by the individual laboratory.

Cryostat Sections and Cell Smears

Anti-endoglin can also be used to label cryostat sections or cell smears with the LSAB method.

Staining interpretation

The cellular staining pattern for anti-endoglin is cytoplasmic.

Performance characteristics

Normal Cells

Endoglin has been found on endothelial cells of capillaries, arterioles, small arteries, venules and high endothelial venules in a variety of tissues. Positive tissues include liver, kidney, skin, urethra, thyroid, lymph node, tonsil, umbilical cord, ovarian tube, thymus, spleen, and lung. In tonsil, lymph node and thymus, all endothelial cells, including those of high endothelial venules, express endoglin.^{4,8,9} Endoglin expression has also been demonstrated on immature proerythroblasts, syncytiotrophoblasts, activated macrophages and stromal fibroblasts from adult and fetal lung and skin.^{4,9,10}

Tumor Cells

Endoglin expression has been demonstrated on non-T/non-B and pre-B acute lymphoblastic leukemia (ALL) and acute myelocytic and myelo-monocytic leukemia cells.^{6,8} Hairy Cell leukemic cells have also been found to express endoglin.¹¹

FRANÇAIS

Code M3527

Intérêt

Pour diagnostic *in vitro*.

Synonyme

GP160

Résumé et explication

L'endogline est une protéine transmembranaire de Type I fortement exprimée dans les cellules endothéliales vasculaires humaines. Une régulation positive de l'expression de l'endogline a été démontrée dans les cellules de la vasculature tumorale et proliférantes, suggérant qu'elle serait un marqueur des cellules endothéliales associées à une prolifération.^{2,3} L'endogline existe sous forme d'un homodimère glycosylé O et N des sous-unités de 95 kD et elle a été désignée CD105 au « Fifth International Workshop on Leucocyte Differentiation Antigens (Boston) ».

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection concernant les procédures IHC pour : 1) Principe de procédure, 2) Matériaux requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactif fourni

Anti-endoglin, SN6h, est un anticorps monoclonal de souris fourni sous forme de surnageant de culture tissulaire (contenant du sérum fœtal bovin) dialysé, dans du Tris-HCl 0,05 mol/L, à 7,2 de pH et 0,015 mol/L d'azide de sodium. Contient une protéine stabilisante.

Clonage: SN6h¹ Isotype: IgG₁, kappa

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

Immunogène

GP160 purifié extrait de glycoprotéines à membrane cellulaire de cellules non T/non B de leucémie lymphoblastique aigüe¹

Spécificité

Il a été démontré que l'endogline était un composant du système de récepteur du facteur de croissance transformant (TGF) β dans les cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine et qu'elle se liait aux TGF β 1 et β 3 avec une grande affinité, mais pas au TGF β 2.^{4,5} Monoclonal mouse anti-endoglin, SN6h, a été décrit à l'origine comme réagissant avec la GP160, une glycoprotéine de surface à cellules associées à la leucémie humaine,^{1,6} plus tard identifiée comme étant l'endogline.⁷

Matériaux requis, mais non fournis

Se référer aux *Dako's Instructions Générales relatives à la procédure de Marquage Immunohistochimique* et/ou aux instructions du système de détection.

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. 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, le NaN₃ peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les réactifs non utilisés doivent être éliminés conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conservé 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'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que des échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

Procédure d'immunomarquage

Suivre la procédure recommandée avec le système de détection choisi.

Préparation de l'échantillon

Coupes en paraffine

Anti-endoglin, SN6h, peut être utilisé pour des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Pour permettre à cet anticorps de fonctionner de manière optimale sur des coupes de tissu incluses en paraffine, il est nécessaire d'utiliser un système de détection hautement sensible tel que le CSA (code K1500) ou le LSAB™+ HRP (code K0679). Monoclonal anti-endoglin, SN6h, peut être utilisé à une dilution de 1:2000 dans le système de détection CSA, déterminée sur des coupes de tissu incluses en paraffine fixées au formol. Le prétraitement des tissus avec des enzymes protéolytiques n'est pas recommandé avec le système de détection CSA.

Anti-endoglin, SN6h, peut aussi être utilisé à une dilution allant de 1:5 à 1:10 avec d'autres systèmes de détection hautement sensibles tel que la méthode LSAB™+ HRP. Le prétraitement des coupes de tissu fixées au formol et incluses en paraffine avec des enzymes protéolytiques doit être exécuté avant la coloration. Lors de l'utilisation d'anti-endogline avec ce système de détection, on peut éventuellement observer une diminution relative de la sensibilité par rapport aux résultats obtenus avec le système CSA. Il ne s'agit là que de recommandations ; les dilutions optimales seront déterminées par chaque laboratoire.

Coupes de cryostat et frottis cellulaires

Anti-endoglin peut aussi être utilisé pour marquer des coupes de cryostat ou des frottis cellulaires par la méthode LSAB™.

Interprétation des résultats

Le profil de marquage cellulaire de l'anti-endogline est cytoplasmique.

Performances

Tissus normaux

L'endogline a été observée sur les cellules endothéliales des capillaires, des artérioles, des petites artères, des veinules et des veinules fortement endothéliales dans divers tissus. Parmi les tissus positifs se trouvent ceux du foie, du rein, de la peau, de l'urètre, de la thyroïde, du ganglion lymphatique, des amygdales, du cordon ombilical, de la trompe utérine, du thymus, de la rate et du poumon. Dans les amygdales, le ganglion lymphatique et le thymus, toutes les cellules endothéliales, y compris celles des veinules fortement endothéliales, expriment l'endogline.^{4,8,9} On a également observé une expression de l'endogline sur les proérythroblastes immatures, les syncytiotrophoblastes, les macrophages activés et les fibroblastes stromaux extraits de poumon et de peau adultes et fœtaux.^{4,9,10}

Tissus anormaux

L'expression de l'endogline a été démontrée dans les cellules non T/non B et pré B de leucémies lymphoblastique aiguës (ALL) et les cellules de leucémies myélocyaires aiguës et myélo-monocyaires.^{6,8} Les leucémies à trycholeucocytes expriment aussi l'endogline.¹¹

DEUTSCH

Code-Nr. M3527

Zweckbestimmung

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

Synonym

GP160

Zusammenfassung und Erläuterung

Als Transmembranprotein vom Typ I wird Endoglin in starkem Umfang auf humanen vaskulären Endothelzellen exprimiert. Up-Regulation der Endoglin-Expression wurde im Gefäßsystem von Tumoren und in proliferierenden Zellen nachgewiesen, was seine Rolle als ein mit Proliferation in Zusammenhang stehender Endothelzellen-Marker nahelegt.^{2,3} Endoglin liegt als O- und N-glycosyliertes Homodimeres mit Untereinheiten von 95 kDa vor und wurde anlässlich des „Fifth International Workshop on Leucocyte Differentiation Antigens“ (Boston) als CD105 gruppiert.⁴

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzipien, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlerbehebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Monoclonal Mouse Anti-Human Endoglin, SN6h, liegt als muriner monoklonaler Antikörper als Gewebekulturüberstand (mit fetalem Rinderserum) in flüssiger Form vor, dialysiert gegen 0,05 mol/L Tris-HCl, pH 7,2, und mit 0,015 mol/L Natriumazid. Enthält Stabilisierungsprotein.

Klon: SN6h¹ Isotyp: IgG₁, kappa
Murine IgG-Konzentration mg/l: Siehe Produktetikett.

Immunogen

Gereinigtes GP160 aus Zellmembran-Glykoproteinen von frischen non-T/non-B-Zellen der akuten lymphoblastischen Leukämie¹

Spezifität

Es wurde nachgewiesen, dass Endoglin in humanen Endothelzellen der Nabelvene ein Bestandteil des TGF- β -Rezeptorsystems (transformierender Wachstumsfaktor, transforming growth factor) ist und mit hoher Affinität TGF- β 1 und β 3 – nicht jedoch TGF- β 2 – bindet.^{4,5} Monoclonal Mouse Anti-Endoglin, SN6h, wurde ursprünglich als mit GP160 reagierend klassifiziert, einem humanen Leukämie-assoziierten Oberflächenglykoprotein,^{1,6} das später jedoch als Endoglin identifiziert wurde.⁷

Zusätzlich benötigte Reagenzien und Zubehör (außerhalb des Lieferumfangs)

Siehe *Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako und/oder Anweisungen des Detektionssystems.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von NaN₃ können auch in Konzentrationen, die nicht als gefährlich klassifiziert sind, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Entsprechende Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Aufbewahrung

Bei 2–8 °C aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Färbeprozedur

Es ist dem für das gewählte Nachweissystem empfohlenen Verfahren zu folgen.

Probenvorbereitung

Paraffinschnitte

Monoclonal Mouse Anti-Human Endoglin, SN6h, kann für formalinfixierte paraffineingebettete Schnitte verwendet werden. Damit dieser Antikörper optimale Leistungen bei paraffineingebetteten Schnitten erbringen kann, wird ein hoch empfindliches Nachweissystem benötigt, wie z. B. CSA (Code-Nr. K1500) oder LSAB™+ HRP (Code-Nr. K 0679). Monoclonal Mouse Anti-Human Endoglin, SN6h, kann für die Bestimmung an formalinfixierten paraffineingebetteten Schnitten zusammen mit dem CSA-Nachweissystem bei einer Verdünnung von 1:2000 eingesetzt werden. Bei Einsatz des CSA-Nachweissystems wird eine Vorbehandlung der Gewebe mit proteolytischen Enzymen nicht empfohlen.

Monoclonal Mouse Anti-Human Endoglin, SN6h, kann auch zusammen mit anderen hoch empfindlichen Nachweissystemen wie LSAB™+ HRP bei einer Verdünnung von 1:5 bis 1:10 genutzt werden. Vor dem Anfärben ist eine Vorbehandlung formalinfixierter paraffineingebetteter Schnitte mit proteolytischen Enzymen vorzunehmen. Wird bei diesem Nachweissystem Anti-Endoglin eingesetzt, kann möglicherweise im Vergleich zu den mit dem CSA-System erhaltenen Ergebnissen eine relative Abnahme der Empfindlichkeit festgestellt werden. Bei den empfohlenen Verdünnungswerten handelt es sich lediglich um Leitlinien. Die optimalen Verdünnungswerte sind von dem jeweiligen Labor zu bestimmen.

Kryostat-Schnitte und Zellabstriche

Monoclonal Mouse Anti-Human Endoglin kann auch für die Markierung von Kryostat-Schnitten oder Zellabstrichen bei Nutzung der LSAB™-Methode eingesetzt werden.

Interpretation des Anfärbens

Das für Anti-Endoglin erhaltene zelluläre Färbemuster ist zytoplasmatisch.

Leistungseigenschaften

Normalgewebe

Endoglin wurde in einer Vielzahl unterschiedlicher Gewebe auf den Endothelzellen von Kapillaren, Arteriolen, kleinen Arterien, Venulen und hochendothelialen Venulen (high endothelial venule, HEV) nachgewiesen. Zu den positiv angefärbten Geweben zählen Leber, Niere, Haut, Urethra, Schilddrüse, Lymphknoten, Tonsille, Nabelschnur, Eileiter, Thymus, Milz und Lunge. In Tonsille, Lymphknoten und Thymus exprimieren alle Endothelzellen, einschließlich jener der hochendothelialen Venulen, Endoglin.^{4,8,9} Die Endoglin-Expression wurde außerdem nachgewiesen auf immaturren Proerythroblasten, Synzytiotrophoblasten, aktivierten Makrophagen und Stromafibroblasten aus erwachsener und fetaler Lunge und Haut.^{4,9,10}

Anomale Gewebe

Bei folgenden Pathologien wurde die Endoglin-Expression auf Zellen nachgewiesen: non-T/non-B und prä-B akute lymphoblastische Leukämie (ALL) und akute myeloische und akute myelomonozytäre Leukämie.^{6,8} Auch bei Haarzell-Leukämie wurde eine zelluläre Endoglin-Expression festgestellt.¹¹





References

Références

Literatur

1. Haruta Y, et al. Multiple epitopes of GP160, a novel human leukemia-associated cell surface glycoprotein. *Fed Proc* 1987; 46(3):1056
2. Burrows FJ, et al. Up-regulation of endoglin on vascular endothelial cells in human solid tumors: Implications for diagnosis and therapy. *Clin Canc Res* 1995; 1:1623
3. Matsuzaki H, et al. Effect of induced transformation of human leukemia cells on the expression of GP160, a novel human leukemia-associated cell surface glycoprotein. *Fed Proc* 1987; 46(3):1056

4. Letarte M, et al. CD105 (endoglin) cluster report. In Schlossman SF, et al (eds). Leucocyte Typing V White Cell Differentiation Antigens. Oxford University Press (Oxford) 1995; 1756
5. Cheifetz S, et al. Endoglin is a component of the transforming growth factor-beta receptor system in human endothelial cells. J Biol Chem 1992; 267(27):19027
6. Haruta Y and Seon BK. Distinct human leukemia-associated cell surface glycoprotein GP160 defined by monoclonal antibody SN6. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83:7898
7. Seon BK, et al. Multiple epitopes of human endoglin, transforming growth factor-β receptor III, detected by SN6 series monoclonal antibodies. Proc Amer Assoc Canc Res 1995; 36:23
8. Gougos A and Letarte M. Identification of a human endothelial cell antigen with monoclonal antibody 44G4 produced against a pre-B leukemic cell line. J Immunol 1988; 141(6):1925
9. Buhning H, et al. Endoglin is expressed on a subpopulation of immature erythroid cells of normal human bone marrow. Leukemia 1991;5(10):841
10. Lastres P, et al. Regulated expression on human macrophages of endoglin, an Arg-Gly-Asp-containing surface antigen. Eur J Immunol 1992; 22:393
11. Haruta Y, et al. New tumor marker for Hairy Cell leukemia. Proc Amer Assoc Canc Res 1988; 29:390

REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer		Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Consult instructions for use <i>Consulter les instructions d'utilisation</i> <i>Gebrauchsanweisung beachten</i>
	Manufacturer Fabricant Hersteller	LOT	Batch code Code du lot Chargenbezeichnung		Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
EC REP	Authorized representative in the European Community Représentant Autorisé dans la Communauté Européenne Autorisierter Repräsentant in der EU		IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	



Dako North America, Inc.
6392 Via Real
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655
Fax 805 566 6688
Technical Support 800 424 0021
Customer Service 800 235 5763

EC REP

Dako Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

PT0039/Rev C