

Monoclonal Mouse Anti-Human CD34 Class II
Clone QBEnd-10
Code M7165

ENGLISH

Intended use
 For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD34 Class II, Clone QBEnd-10, is intended for use in immunocytochemistry. Antibodies to CD34 can be utilized to quantitate and purify lymphohaematopoietic stem/progenitor cells for transplantation and research (1-5). CD34 is a useful marker for the identification of vascular and lymphatic tumors and for the sub classification of leukaemias (5, 6, 8). The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient’s clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and explanation
 CD34 is a single-chain transmembrane protein of approximately 116 kDa. CD34 is expressed on immature haematopoietic stem/progenitor cells, capillary endothelial cells, embryonic fibroblasts and rare glial cells in nervous tissue (1, 4).

CD34 appears to be expressed at its highest level on the earliest progenitors, and to decrease progressively with maturation (2, 3). CD34 is a stage-specific, rather than a lineage-specific, leucocyte differentiation antigen. The most immature definable B-lymphoid precursors (CD19+/CD10+/TdT+) are CD34+ (2-4). Immature T-lymphoid precursors also express TdT and CD34 (4). Normal peripheral blood lymphocytes, monocytes, granulocytes, and platelets do not express CD34. Approximately 60% of acute B-lymphoid leukaemias and 40% of acute myeloid leukaemias (AML), and 1% to 5% of acute T-lymphoid leukaemias express CD34 (3). Chronic lymphoid leukaemias, lymphomas and multiple myelomas have been found to be uniformly CD34 negative (1-4).

Monoclonal antibodies to CD34 can be confined to three main classes, class I, class II and class III, defined by the differential sensitivity of the corresponding CD34 epitopes to degradation by specific enzymes. The QBEnd 10 antibody is a class II monoclonal antibody that recognizes a CD34 epitope that is resistant to neuraminidase, and sensitive to glycoprotease and chymopapain (1, 3, 7).

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 NaN₃,

Clone: QBEnd-10. Isotype: IgG1, kappa.

Mouse IgG concentration: See label on vial.

The protein concentration between lots may vary without influencing the optimal dilution. The titer of each individual lot is compared and adjusted to a reference lot to ensure a consistent immunohistochemical staining performance from lot-to-lot.

Immunogen
 Endothelial cell membranes obtained as vesicles from human placenta (6, 8).

Specificity
 Anti-CD34, QBEnd 10, was included in the Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Vienna 1989, Boston 1993), and studies by different laboratories confirmed its reactivity with the CD34 antigen (2, 7) and the class II epitope (7).

In formalin-fixed, paraffin embedded tonsil sections the antibody labels endothelial cells.

In flow cytometry the antibody labels KG-1a cells (a primitive myeloid leukaemia cell line, known to be CD34+).

- 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, 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.
 4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
 5. Unused solution 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 Services.

Specimen preparation
Paraffin sections: The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Pre-treatment of tissues with proteinase K, trypsin, or heat-induced epitope retrieval is required. For heat-induced epitope retrieval, optimal results are obtained with, Dako Target Retrieval Solution, High pH, code S3308, or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. Less optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, code S1700, or 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunocytochemical staining procedure.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labelling acetone fixed, frozen sections and cell smears.

Staining procedure
Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human CD34 Class II, code No. M7165, may be used at a dilution range of 1:25-1:50 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0, 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 X0931, 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 S0809. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimen.

Visualization: Dako LSAB™+HRP kit, code K0679, and Dako EnVision™+HRP kits, code K4004 and K4006, are recommended. For frozen sections and cell preparations, the Dako APAAP kit, code K0670, is a good alternative if endogenous peroxidase staining is a concern. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Automation: 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.

Normal tissues: The antibody labels capillaries of most tissues as well as umbilical artery and, to a lesser extent, vein. The antibody does not label endothelium of most large vessels and the endothelium of placental sinuses (8).

Abnormal tissue: A total of 112 vascular tumours, 54 carcinomas of different types and 45 non-vascular spindle cell tumours were stained with anti-CD34, clone QBEnd-10 (6). All (22/22) the benign tumours of blood vascular origin showed immunoreactivity whereas only five out of eight lymphangiomas demonstrated a weak focal reaction with QBEnd-10 (6). Tumour cells in angiosarcoma forming vasoformative areas and solid areas showed immunopositivity to QBEnd-10 in 17/23 and 13/24 cases respectively (6). Proliferating vessels and the majority of spindle cells in Kaposi’s sarcoma were positive in all 40 cases. Only one of 54 cases of carcinoma showed luminal reaction to QBend-10. However, 17 of 45 spindle cell tumours displayed a positive reaction (6).

Product-specific limitations
 It has been reported that binding of CD34 monoclonal antibodies may be reduced by fixatives present in erythrocyte-lysing reagents, suggesting that the CD34 epitope is negatively affected. Hence, fixatives should be used with caution if the monoclonal antibody is to be used for enumeration purposes (9).

FRANÇAIS

Intérêt
 Pour diagnostic in vitro.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD34 Class II, Clone QBEnd-10, est destiné pour un usage en immunocytochimie. Les anticorps de CD34 peuvent être utilisés pour quantifier et purifier les souches et précurseurs des cellules lymphohématopoïétiques et ceci, à des fins de recherche ou de greffe (1,5). CD34 est un marqueur utile pour l’identification des tumeurs vasculaires et lymphatiques et pour la classification des sous-groupes de leucémies (5,6,8). L’interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d’autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication
 CD34 est une protéine transmembranaire à chaîne simple d’environ 116 kDa. CD34 est exprimé sur les souches et précurseurs des cellules hématopoïétiques, les cellules des capillaires endothéliens, les fibroblastes embryonnaires et les rares cellules gliales du tissu nerveux (1,4).

CD34 semble être exprimé à son plus haut niveau sur les précurseurs précoces, et son expression décroît au cours de la maturation (2,3). CD34 est un antigène de la différenciation leucocytaire spécifique de chaque étape plutôt que de chaque lignée. Les précurseurs les plus immatures définissables de lymphoïdes-B (CD19+/CD10+/TdT+) sont CD34+ (2-4). Les précurseurs lymphoïdes-T immatures expriment également TdT et CD34 (4). Les lymphocytes du sang périphérique normal, les monocytes, les granulocytes et les plaquettes n’expriment pas CD34. Environ 60% des leucémies lymphoïdes-B aiguës et 40% des leucémies myéloïdes aiguës (LMA) ainsi que 1% à 5% des leucémies lymphoïdes-T aiguës expriment CD34 (3). Les leucémies lymphoïdes chroniques, les lymphomes et les myélomes multiples sont uniformément négatifs à CD34 (1-4).

Les anticorps monoclonaux de CD34 s’organisent en trois classes, classe I, classe II et classe III définies en fonction de la sensibilité différentielle des épitopes correspondants de CD34 à la dégradation par des enzymes spécifiques. L’anticorps QBEnd 10 appartient à la classe II des anticorps monoclonaux qui reconnaît un épitope de CD34 résistant à la neuraminidase, et sensible à la glycoprotéase et la chymopapaine (1, 3, 7).

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: QBEnd-10. Isotype: IgG1, kappa.

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

La concentration en protéines peut varier d’un lot à l’autre sans que cela influence la dilution optimale. Le titre de chaque lot est comparé et ajusté par rapport à un lot de référence pour assurer des performances de coloration immunohistochimiques cohérentes d’un lot à l’autre.

Immunogène
 Membranes cellulaires de cellules endothéliales obtenues à partir de vésicules de placenta humain (6,8).

Spécificité
 Anti-CD34, QBEnd 10, était inclu durant le Fourth and Fifth Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Vienne 1989, Boston 1993), et des études par des laboratoires variés ont mis en évidence sa réactivité à l’antigène CD34 (2, 7) et l’épitope de classe II (7).

Dans les coupes incluses en paraffine, fixées au formol de l’amygdale, l’anticorps marque les cellules endothéliales.

En cytométrie en flux, l’anticorps marque les cellules KG-1a (lignée cellulaire primitive de la leucémie myéloïde, reconnu comme étant CD34+).

- Précautions d’emploi**
1. Pour utilisateurs professionnels.
 2. Ce produit contient de l’azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique 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 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.
 4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
 5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Stockage
 Stocker entre 2° et 8°C. Ne pas utiliser après la date de péremption mentionnée 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
Coupes en paraffine: L’anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Il est impératif d’effectuer un prétraitement des tissus avec la protéinase K ou la trypsine ou par démasquage de l’épitope induite par la chaleur. Pour effectuer un démasquage de l’épitope induite par la chaleur, des résultats optimaux sont obtenus avec Dako Target Retrieval Solution, pH élevé, code S3308 ou 10 mmol/L en tampon Tris, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0. Des résultats plus faibles sont obtenus avec Dako Target Retrieval Solution, code S1700, ou 10 mmol/L tampon citrate, pH 6.0. 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, fixées à l’acétone, et de préparations de cellules .

Procédure d’immunomarquage
Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human, CD34 Class II. code M7165, peut être dilué entre 1:25 et 1:50 pour une application sur des 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 10 mmol/L de tampon Tris, 1mmol/L d’EDTA , à pH 9,0, et 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 X0931, 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, il est recommandé de diluer ces

réactifs juste avant leur emploi; ou de les diluer dans Dako Antibody Diluent, code S0809. Les contrôles positifs et négatifs doivent être opérés simultanément avec l'échantillon du patient.

Révélation: Dako LSAB™+/HRP kit, code K0679, et Dako EnVision™+/HRP kits, codes K4004 et K4006, sont requis. Pour les coupes en congélation et préparations cellulaires, Dako APAAP kit, code K0670, est une alternative valable si le marquage endogène péroxydasique est à craindre.
Suivre la procédure incluse avec le kit de révélation choisi.

Automatisation: L'anticorps est bien approprié au marquage immunocytochimique sur plateformes automatiques comme le Dako Autostainer.

Performances

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

Tissus normaux: L'anticorps marque les capillaires de la plupart des tissus ainsi que l'artère ombilicale et, à un moindre degré, les veines. L'anticorps ne marque pas l'endothélium de la plupart des vaisseaux de grande taille ou l'endothélium des sinus placentaires (8).

Tissus anormaux: Au total 112 tumeurs vasculaires, 54 carcinomes de différents types et 45 tumeurs cellules malpighiennes non-vasculaires ont été marquées à l'anti-CD34, clone QBEnd-10 (6). Toutes les tumeurs bénignes (22/22) ayant pour origine le sang vasculaire ont présenté une immunoréactivité, tandis que seulement cinq lymphangiomes sur huit ont montré une faible réaction focale à QBEnd-10 (6). Les cellules tumorales des angiosarcomes formant des zones vasoformatives et solides ont montré une immunopositivité à QBEnd-10 dans respectivement 17/23 et 13/24 des cas (6). Les vaisseaux prolifératifs et la majorité de cellules malpighiennes dans le sarcome de Kaposi étaient positifs dans les 40 cas. Seulement un cas de carcinome sur 54 a montré une réaction luminale à QBEnd-10. Cependant, 17 cellules malpighiennes sur 45 ont montré une réaction positive (6).

Limitations spécifiques du produit

Il a été rapporté que la liaison entre des anticorps monoclonaux CD34 peut être réduite par des fixateurs présents dans les réactifs de lyse des érythrocytes, ce qui pourrait suggérer que l'épitope de CD34 est affecté. Les fixateurs doivent donc être utilisés avec précaution lorsque l'anticorps monoclonal est utilisé à des fins d'énumération (9).

<p>DEUTSCH</p>

Zweckbestimmung

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD34 Class II, Clone QBEnd-10, ist für den immunzytochemischen Gebrauch bestimmt. Antikörper gegen CD34 finden Verwendung in der Quantifizierung und Reinigung lymphohämatopoetischer Stamm- bzw. Vorläuferzellen für Transplantations- und Forschungszwecke (1 -5). CD34 ist ein nützlicher Marker für die Identifizierung von vaskulären und lymphatischen Tumoren sowie für die Unterklassifizierung von Leukämien (5, 6, 8). Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erklärung

CD34 ist ein einkettiges Transmembranprotein mit circa 116 kDa. CD34 wird auf unreifen hämatopoetischen Stamm-/Vorläuferzellen, kapillaren Endothelzellen, embryonalen Fibroblasten und vereinzeltcn Gliazellen im Nervengewebe exprimiert (1, 4).

CD34 scheint im höchsten Grad an den frühesten Stadien der Vorläuferzellen exprimiert zu werden und seine Expression nimmt mit der Reifung ständig ab (2, 3). CD34 ist ein stadiumspezifisches und nicht ein Abstammungslinien-spezifisches Antigen der Leukozytendifferenzierung. Die unreifsten definierbaren B-Lymphoidvorläufer (CD19+/CD10+/TdT+) sind CD34-positiv (2-4). Unreife T-Lymphoidvorläufer exprimieren ebenfalls TdT und CD34 (4). Normale Lymphozyten , Monozyten, Granulozyten und Thrombozyten aus peripherem Blut exprimieren CD34 nicht. Etwa 60% aller akuten B-lymphoiden Leukämien und 40% der Akuten Myeloischen Leukämien (AML) sowie 1 bis 5% der akuten T-lymphoiden Leukämien exprimieren CD34 (3). Chronische Lymphatische Leukämien, Lymphome und multiple Myelome sind immer CD34-negativ (1-4).

Monoklonale Antikörper gegen CD34 können in drei Hauptklassen eingeteilt werden: Klasse I, Klasse II und Klasse III, welche durch die differentielle Empfindlichkeit der entsprechenden CD34-Epitope auf den Abbau durch spezifische Enzyme definiert werden. Der QBEnd 10-Antikörper ist ein monoklonaler Antikörper der Klasse II, der ein CD34-Epitop erkennt, das resistent gegen Neuraminidase ist und empfindlich auf Glykoprotease und Chymopapain reagiert (1, 3, 7).

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: QBEnd-10. **Isotyp:** IgG1, Kappa.

Maus-IgG-Konzentration: Siehe Produktetikett.

Die Proteinkonzentration kann bei den Chargen verschieden ausfallen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer wird bei jeder einzelnen Charge mit einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färbeargebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

Immunogen

Endothelzellmembranen, als Vesikel aus menschlicher Plazenta gewonnen (6, 8).

Spezifität

Anti-CD34, QBEnd 10, wurde im Kontext des „Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ (Wien 1989, Boston 1993) ausgenommen und Studien verschiedener Labors bestätigten seine Reaktivität mit dem CD34-Antikörper (2, 7) und dem Klasse II-Epitop (7).

Der Antikörper markiert Endothelzellen in formalinfixierten, paraffineingebetteten Tonsillenschnitten.

In der Durchflusszytometrie, markiert der Antikörper KG-1a-Zellen (eine primitive Zelllinie der myeloischen Leukämie, die als CD34+ bezeichnet wird).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Für geschultes Fachpersonal
- 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
- Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.
- Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
- Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

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

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, formalinfixierten histologischen Schnitten genutzt werden. Gewebe müssen mit Proteinase K, Trypsin oder hitzeinduzierter Epitopdemaskierung vorbehandelt werden. Für die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung werden optimale Resultate erzielt mit Dako Target Retrieval Solution, pH 9,9, Code-Nr. S3308 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. S1700 oder 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6,0, erbringt weniger optimale Resultate. Während der Gewebevorbehandlung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen Färbeprozedur dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

(105055-004)

M7165/EFG/ROP/2008.10.03 p. 3/4

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Gefrierschnitte und zytologische Präparate: Der Antikörper kann für die Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten und Zellausstrichen verwendet werden.

Färbeprozedur

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human CD34 Class II, Code-Nr. M7165, kann bei einem Verdünnungsbereich von 1:25-1:50 eingesetzt werden, wenn es für Formalin-fixierte, in Paraffin eingebettete Schnitte der menschlichen Tonsillen genutzt wird und wenn 20 Minuten lang das Hitze-induzierte Epitope-Retrieval in 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0, 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. X0931, 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. S0809, vorzunehmen. Es sollten die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden.

Visualisierung: Folgende Kits werden empfohlen: Dako LSAB™+/HRP-Kit, Code-Nr. K0679 und Dako EnVision™+/HRP-Kits, Code-Nr. K4004 und K4006. Falls bei Gefrierschnitten und Zellpräparaten Probleme mit endogener Peroxidasefärbung auftreten, bietet der Dako APAAP Kit, Code-Nr. K0670, eine gute Alternative. Es ist dem Verfahren zu folgen, das in den Anleitungen des genutzten Kits für die Visualisierung erläutert wird.

Automatisierung: 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.

Normalgewebe: Der Antikörper markiert Kapillaren der meisten Gewebe sowie umbilikale Arterien und, zu einem geringeren Grad, Venen. Der Antikörper markiert nicht das Endothel der meisten großen Gefäße und auch nicht das Endothel des Plazentasinus (8)

Anomale Gewebe: Insgesamt wurden 112 vaskuläre Tumore, 54 Karzinome unterschiedlicher Art und 45 nichtvaskuläre Spindelzelltumore mit Anti-CD34, Klon QBEnd-10, angefärbt (6). Alle (22/22) benignen Tumore, die aus Blutgefäßen stammten, zeigten eine Immunreaktion, wogegen nur fünf von acht Lymphangiomen eine schwache fokale Reaktion mit QBEnd-10 aufwiesen (6). Tumorzellen in Angiosarkomen bildeten gefäßförmige Bereiche und durchgehende Bereiche zeigten eine positive Immunreaktion mit QBEnd-10 in 17/23 bzw. 13/24 Fällen (6). Proliferierende Gefäße und die Mehrzahl der Spindelzellen des Kaposi Sarkoms reagierten in allen 40 Fällen positiv. Nur ein Fall aus 54 Fällen von Karzinomen zeigte eine luminale Reaktion auf QBend-10. Jedoch zeigten 17 von 45 Spindelzelltumoren eine positive Reaktion (6)





Produktspezifische Beschränkungen

Nach einigen Berichten kann die Bindung der monoklonalen CD34-Antikörper durch in erythrozytenauflösenden Reagenzien vorhandene Fixative gemindert werden, was darauf hinweist, dass der CD34-Epitop negativ beeinflusst wird. Es sind daher Fixative mit Vorsicht anzuwenden, wenn der monoklonale Antikörper für enumerative Zwecke verwendet wird (9).

References/ Références/ Literatur

- Nishio H, Tada J, Hashiyama M, Hirn J, Ingles-Esteve J, Suda T. MC7. CD34 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. 974-76.
- Civin CI, Trischmann TM, Fackler MJ, Bernstein ID, Bühring HJ, Campos L, et al. M7.1. Report on the CD34 cluster workshop. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, et al., editors. Leukocyte 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. 818-25.
- Civin CI, Strauss LC, Fackler MJ, Trischmann TM, Wiley JM, Loken MR. Positive stem cell selection - basic science. Prog Clin Biol Res 1990;333:387-402.
- Krause DS, Fackler MJ, Civin CI, May WS. CD34: structure, biology, and clinical utility (review). Blood 1996;87:1-13.
- Campos L, Guyotat D, Archimbaud E, Devaux Y, Treille D, Larese A, et al. Surface marker expression in adult acute myeloid leukaemia: correlations with initial characteristics, morphology and response to therapy. Br J Haematol 1989;72:161-6.
- Ramani P,Bradley NJ, Fletcher CDM. QBEND/10, a new monoclonal antibody to endothelium: assesment of its diagnostic utility in paraffin sections. Histopathology 1990;17:237-242.
- Dercksen MW, Daams GM, de Haas M, von dem Borne AEG, van der Schoot CE. M10.2 Characterization of the CD34 cluster. In: Schlossman SF, Bounsell 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. 850-3.
- Fina L, Molgaard HV, Robertson D, Bradley NJ, Monaghan P, Delia D, et al. Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells. Blood 1990;75(12):2417-2426.
- Serke S, van Lessen A, Huhn D. Quantitative fluorescence flow cytometry: a comparison of the three techniques for direct and indirect immunofluorescence. Cytometry 1998;33:179-87.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF	Catalogue number Réf é rence 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		

(105055-004)

M7165/EFG/ROP/2008.10.03 p. 4/4

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17