

**Monoclonal Mouse  
Anti-Human  
B-Cell-Specific Activator Protein**  
Clone DAK-Pax5

**Code M7307**

**ENGLISH**

**Intended use**

For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human B-Cell-Specific Activator Protein, Clone DAK-Pax5, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels B-cell-specific activator protein (BSAP)-expressing cells including pro-, pre-, and mature B cells. Results aid in the classification of lymphomas (1). Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. 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. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using non-immunologic histochemical stains.

**Synonyms for antigen**

BSAP, Pax5, NF-HB, S $\alpha$ -BP, NFS $\mu$ -B1, LR1 and EBB-1 (2, 4).

**Summary and explanation**

BSAP, also known as paired box protein 5 (Pax5), is a transcription factor expressed in B cells. BSAP is a member of the PAX gene family that encodes transcription factors involved in B-cell development. BSAP is expressed in pro-, pre-, and mature B cells, but not in plasma cells (3, 4). Targeted disruption of the BSAP gene in mice blocks B-cell development at the pro-B-cell stage, suggesting a role for BSAP in the control of B-cell development (2). During embryogenesis BSAP expression is transiently expressed in the developing central nervous system. Later, BSAP expression is detected in the fetal liver where it correlates with the onset of B lymphopoiesis. Thus, BSAP may not only play an important role in B-cell development but also in neural development (3, 5).

In classic Hodgkin lymphoma (CHL), Hodgkin and Reed-Sternberg cells (HRS cells) usually express BSAP, whereas HRS cells mostly do not display B-cell antigens such as CD19 or CD20 (6). BSAP expression has also been reported in subsets of epithelial malignancies (7).

Refer to *Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure, Materials Required, Not Supplied, Storage, Specimen Preparation, Staining Procedure, Quality Control, Troubleshooting, Interpretation of Staining, General Limitations.

**Reagent provided**

Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant dialyzed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and containing 0.015 mol/L sodium azide.

Clone: DAK-Pax5. 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**

Synthetic 17-mer peptide from the C-terminal inhibitory domain of the protein.

**Specificity**

In Western blotting of mouse spleen cell lysate, the antibody labels a 55 kDa protein corresponding to BSAP.

**Precautions**

1. For in vitro diagnostic use.
2. For professional users.
3. This product contains sodium azide (NaN<sub>3</sub>), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
6. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

**Storage**

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.

**Specimen preparation**

The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin.

Pre-treatment of deparaffinized tissue sections with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required. Optimal results are obtained by pretreating tissues with HIER using Dako EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (Code K8005) or Dako Target Retrieval Solution (Codes S1700/S1699).

Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link. For details, please refer to PT Link User Guide. The following parameters should be used for PT Link: Pre-heat temperature: 65 °C; epitope retrieval temperature and time: 97 °C for 20 (±1) minutes; cool down to 65 °C. Remove slide rack from PT tank and immediately dip slides in jar/tank (e.g., PT Link Rinse Station, Code PT109) containing diluted room temperature EnVision FLEX Wash Buffer (20x) (Code K8007). Leave slides in Wash Buffer for 1-5 minutes.

The tissue sections should not dry out at any point during pre-treatment or in the immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of Dako Silanized Slides (Code S3003) is recommended.

**Staining procedure**

These are guidelines only. Optimal conditions may vary depending on specimen type and preparation method, and should be validated individually by each laboratory. The performance of this antibody should be established by the user when utilized with other manual staining systems or automated platforms.

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human B-Cell-Specific Activator Protein, Code M7307, may be used at a dilution range of 1:15-1:30 when applied on pretreated, formalin-fixed, paraffin-embedded sections using a 20 minute incubation at room temperature. It is recommended that the antibody is diluted in EnVision FLEX Antibody Diluent (Code K8006) or Dako Antibody Diluent (Code S0809). The recommended negative control reagent is Dako Negative Control, Mouse IgG1 (Code X0931), diluted to the same IgG1 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 prior to use.

Visualization: EnVision FLEX+, Mouse, High pH (Code K8002/K8012), replacing the High pH Target Retrieval Solution from this kit with EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x), (Code K8005) using a 20 minute incubation at room temperature. Follow the procedure enclosed with the selected visualization system(s).

Quality Control: Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens.

## Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display nuclear staining.

## Performance characteristics

**Normal tissues:** Normal lymphoid tissues (lymph node, spleen, and tonsil) show strong nuclear BSAP staining in B-lymphocytes, but all remaining organs of the human body are not labeled (1).

**Abnormal tissues:** The antibody labeled 155/169 classic Hodgkin lymphomas (hereof only 12 with intense staining), 155/155 diffuse large B-cell lymphomas, 41/41 follicular lymphomas, 66/66 mantle cell lymphomas, 11/11 splenic B-cell marginal zone lymphomas, 35/35 Burkitt lymphomas, 76/76 chronic lymphocytic leukemias/small lymphocytic lymphomas, 11/11 B-lymphoblastic leukemias/lymphomas, 30/30 hairy cell leukemias, 12/12 nodal marginal zone lymphomas, 6/6 nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphomas, 23/30 posttransplant lymphoproliferative disorders (monomorphic PTL-D), and weak labeling was observed in 5/84 cases of carcinomas of colon and rectum, 1/26 kidney cancers, 1/11 bladder cancers, 4/21 prostate cancers, 1/14 stomach cancers, 2/4 Merkel cell carcinomas, 4/11 neuroendocrine carcinomas, 2/16 cervix cancers, and 3/13 ovary cancers (1). No labeling was found in 17 acute myeloid leukemias, 47 angioimmunoblastic T-cell lymphomas, 27 aplastic large cell lymphomas ALK+, 17 aplastic large cell lymphomas ALK-, 6 chronic myelogenous leukemias, 1 extranodal NK/T-cell lymphoma nasal-type, 1 hepatosplenic T-cell lymphoma, 5 mycosis fungoides, 158 peripheral T-cell lymphomas unspecified (PTCL/U), 6 plasma cell myelomas, 7 T-lymphoblastic leukemias/lymphomas, 1 panniculitis-like T-cell lymphoma, 18 ductal pancreas cancers, 28 liver cancers, 14 gastric cancers, 38 breast cancers, 17 uterus cancers, 46 sarcomas, 13 melanomas, 10 thymomas, 10 medulloblastomas, 20 gliomas, 100 lung cancers, and 21 testis cancers (1).

## FRANÇAIS

### Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human B-Cell-Specific Activator Protein, Clone DAK-Pax5, est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). L'anticorps marque les cellules exprimant la protéine activatrice spécifique des lymphocytes B (BSAP), notamment les lymphocytes B pro-lymphome et pré-lymphome, ainsi que les lymphocytes B matures. Les résultats obtenus facilitent la classification des lymphomes (1). La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. 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. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histo-chimiques non immunologiques.

### Synonymes de l'antigène

BSAP, Pax5, NF-HB, S $\alpha$ -BP, NFS $\mu$ -B1, LR1 et EBB-1 (2, 4).

### Résumé et explication

La protéine BSAP, également appelée PAX5, est un facteur de transcription exprimé dans les lymphocytes B. La protéine BSAP appartient à la famille des gènes PAX, qui code les facteurs de transcription impliqués dans le développement des lymphocytes B. La protéine BSAP est exprimée dans les lymphocytes B pro-lymphome, pré-lymphome et les lymphocytes B matures, mais pas dans les cellules plasmiques (3, 4). La perturbation ciblée du gène BSAP chez les souris bloque le développement des lymphocytes B au stade des cellules pro-B, suggérant ainsi qu'il intervient dans le contrôle du développement des lymphocytes B (2). Durant l'embryogenèse, l'expression du gène BSAP s'effectue de façon transitoire dans le système nerveux central en développement. Par la suite, une expression du gène BSAP est détectée dans le foie du fœtus, où il correspond à un début de lymphopoïèse B. Ainsi, le gène BSAP joue non seulement un rôle important dans le développement des lymphocytes B, mais également dans le développement nerveux (3, 5).

Dans le cadre d'un lymphome de Hodgkin classique (CHL), les cellules de Hodgkin et de Reed-Sternberg (cellules HRS) expriment généralement le gène BSAP, tandis que les cellules HRS ne présentent majoritairement pas d'antigènes des lymphocytes B tels que le CD19 ou CD20 (6). L'expression du gène BSAP a également été observée dans des sous-ensembles de tumeurs épithéliales (7).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du système de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.

### Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris, fourni sous forme liquide en tant que surnageant de culture cellulaire, dialysé contre 0,05 mol/L de Tris-HCl à pH 7,2, et contenant 0,015 mol/L d'azide de sodium.

**Clone :** DAK-Pax5. **Isotype :** IgG1, kappa.

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

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

Peptide 17-mérique synthétique issu du domaine inhibiteur C-terminal de la protéine.

### Spécificité

Dans le Western blot d'un lysat de cellules de rate de souris, l'anticorps marque une protéine de 55 kDa correspondant au BSAP.

### Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
4. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées.
5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau.
6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.

### Conservation

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'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.

### Préparation des échantillons

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol.

Le prétraitement des coupes de tissus déparaffinées avec une restauration d'épitope induite par la chaleur (HIER) est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus par la méthode HIER, à l'aide de la solution Dako EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (réf. K8005) ou Dako Target Retrieval Solution (réf. S1700/S1699).

Le prétraitement des coupes tissulaires déparaffinées, fixées au formol et incluses en paraffine, est recommandé à l'aide du Dako PT Link. Pour plus de détails, se reporter au Guide d'utilisation du PT Link. Les paramètres suivants doivent être utilisés pour le PT Link : Température de préchauffage : 65 °C ; température et durée de restauration de l'épitope : 97 °C pendant 20 minutes ( $\pm$  1 minute) ; laisser refroidir jusqu'à 65 °C. Retirer le portoir à lames de la cuve du PT et plonger immédiatement les lames dans un récipient/une cuve (par ex., PT Link Rinse Station, réf. PT109) contenant du tampon de lavage EnVision FLEX Wash Buffer (20x) (réf. K8007), dilué et à température ambiante. Laisser les lames dans le tampon de lavage pendant 1 à 5 minutes.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher à n'importe quel stade du prétraitement ou de la procédure de coloration immunohistochimique. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames Dako Silanized Slides (réf. S3003).

## Procédure de coloration

Il ne s'agit là que de conseils. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du type de prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être validées individuellement par chaque laboratoire. Les performances de cet anticorps doivent être établies par l'utilisateur lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuelle ou plates-formes automatisées.

**Dilution :** Le Monoclonal Mouse Anti-Human B-Cell-Specific Activator Protein, réf. M7307, peut être utilisé à une gamme de dilution allant de 1:15 à 1:30 lorsqu'il est appliqué sur des coupes incluses en paraffine, fixées au formol et prétraitées avec une incubation à température ambiante de 20 minutes. Il est recommandé que l'anticorps soit dilué dans du EnVision FLEX Antibody Diluent (réf. K8006) ou du Dako Antibody Diluent (réf. S0809). Le réactif de contrôle négatif recommandé est le Dako Negative Control, Mouse IgG1 (réf. X0931), dilué à la même concentration en IgG1 que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie lors de la procédure de coloration en cours, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation.

**Visualisation :** Produit EnVision FLEX+, Mouse, High pH (réf. K8002/K8012), en remplaçant la solution High pH Target Retrieval Solution de ce kit par la solution EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x), (réf. K8005), en utilisant une incubation de 20 minutes à température ambiante. Suivre la procédure incluse dans le(s) système(s) de révélation sélectionné(s).

**Contrôle de qualité :** Les tissus de contrôle positif et négatif, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients.

## Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration nucléaire.

## Performances

**Tissus sains :** Les tissus lymphoïdes sains (ganglion lymphatique, rate et amygdales) présentent une coloration BSAP nucléaire forte dans les lymphocytes B, mais aucun autre organe du corps humain n'est marqué (1).

**Tissus anormaux :** L'anticorps a marqué 155 cas sur 169 de lymphomes de Hodgkin classiques (dont 12 seulement avec une coloration intense), 155 cas sur 155 de lymphomes diffus à grands lymphocytes B, 41 cas sur 41 de lymphomes folliculaires, 66 cas sur 66 de lymphomes à cellules du manteau, 11 cas sur 11 de lymphomes de la zone marginale de la rate à cellules B, 35 cas sur 35 de lymphomes de Burkitt, 76 cas sur 76 de lymphomes à petits lymphocytes/leucémies lymphocytaires chroniques, 11 cas sur 11 de lymphomes/leucémies lymphoblastiques à cellules B, 30 cas sur 30 de leucémies à cellules chevelues, 12 cas sur 12 de lymphomes de la zone marginale ganglionnaire, 6 cas sur 6 de lymphomes de Hodgkin nodulaire à prédominance lymphocytaire, 23 cas sur 30 de maladies lymphoprolifératives post-greffe (monomorphe SLPT-B), et un faible marquage a été observé dans 5 cas sur 84 de carcinomes du côlon et du rectum, 1 cas sur 26 de cancer des reins, 1 cas sur 11 de cancer de la vessie, 4 cas sur 21 de cancer de la prostate, 1 cas sur 14 de cancer de l'estomac, 2 cas sur 4 de carcinomes à cellules de Merkel, 4 cas sur 11 de carcinomes neuroendocrines, 2 cas sur 16 de cancer de l'utérus et 3 cas sur 13 de cancer des ovaires (1). Aucun marquage n'a été observé dans 17 cas de leucémies aiguës myéloïdes, 47 cas de lymphomes angio-immunoblastiques à lymphocytes T, 27 cas de lymphomes anaplasiques à grandes cellules ALK+, 17 cas de lymphomes anaplasiques à grandes cellules ALK-, 6 cas de leucémies myélogènes chroniques, 1 cas de lymphome extra-ganglionnaire à lymphocytes T/cellules NK de type nasal, 1 cas de lymphome à cellules T hépatosplénique, 5 cas de mycose fongicoïde, 158 cas de lymphomes à cellules T périphériques non spécifiés (PTCL/U), 6 cas de myélomes à cellules plasmatiques, 7 cas de lymphomes/leucémies lymphoblastiques à lymphocytes T, 1 cas de lymphome à cellules T de type panniculite, 18 cas de cancer des canaux du pancréas, 28 cas de cancer du foie, 14 cas de cancer de l'estomac, 38 cas de cancer du sein, 17 cas de cancer de l'utérus, 46 cas de sarcome, 13 cas de mélanomes, 10 cas de thymomes, 10 cas de médulloblastomes, 20 cas de gliomes, 100 cas de cancer du poumon et 21 cas de cancer des testicules (1).

## DEUTSCH

### Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human B-Cell-Specific Activator Protein, Clone DAK-Pax5, ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Der Antikörper markiert Zellen, die das B-Zellen-spezifische Aktivatorprotein BSAP (B-Cell-Specific Activator Protein) exprimieren (Pro-, Prä- und reife B-Zellen). Die Ergebnisse unterstützen die Klassifikation von Lymphomen (1). Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer eintretenden oder ausbleibenden 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. Dieser Antikörper kommt nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen zum Einsatz.

### Synonyme Bezeichnungen des Antigens

BSAP, Pax5, NF-HB, S $\alpha$ -BP, NFS $\mu$ -B1, LR1 und EBB-1 (2, 4).

### Zusammenfassung und Erklärung

BSAP, das auch als Paired Box-Protein 5 (Pax5) bezeichnet wird, ist ein in B-Zellen exprimierter Transkriptionsfaktor. BSAP gehört zur PAX-Genfamilie, die an der Entwicklung der B-Zellen beteiligte Transkriptionsfaktoren kodiert. BSAP wird in Pro-, Prä- und reifen B-Zellen, aber nicht in Plasmazellen exprimiert (3, 4). Gezielte Störung des BSAP-Gens bei Mäusen blockiert die Entwicklung von B-Zellen im Stadium der Pro-B-Zellen und weist darauf hin, dass BSAP bei der Steuerung der B-Zellen-Entwicklung eine Rolle spielt (2). Während der Embryogenese wird die BSAP-Expression im sich entwickelnden zentralen Nervensystem vorübergehend exprimiert. Später wird die BSAP-Expression in der fötalen Leber nachgewiesen, wo sie mit dem Einsetzen der B-Lymphopoese korreliert. BSAP spielt also nicht nur möglicherweise eine wichtige Rolle bei der Entwicklung von B-Zellen, sondern auch bei der neuronalen Entwicklung (3, 5).

Beim klassischen Hodgkin-Lymphom (CHL) exprimieren Hodgkin- und Reed-Sternberg-Zellen (HRS-Zellen) in der Regel BSAP, während HRS-Zellen überwiegend keine B-Zellen-Antigene wie CD19 oder CD20 aufweisen (6). Eine BSAP-Expression wurde auch in Untergruppen epithelialer Tumore nachgewiesen (7).

Folgende Angaben bitte den *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien; Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien; Lagerung; Gewebepreparation; Färbeverfahren; Qualitätskontrolle; Fehlerbehandlung; Auswertung der Färbung; Allgemeine Beschränkungen.

### Geliefertes Reagenz

Monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form als Gewebekulturüberstand, gegen 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 dialysiert, enthält 0.015 mol/L Natriumazid.

**Klon:** DAK-Pax5. **Isotyp:** IgG1, Kappa.

**Konzentration von Maus-IgG:** Siehe Behälteretikett.

Die Proteinkonzentration kann zwischen Chargen abweichen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer jeder Charge wird mit dem einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färbegergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

### Immunogen

Synthetisches 17-mere Peptide aus der C-terminalen, hemmenden Domäne des Proteins.

### Spezifität

Beim Western-Blotting von Maus-Milzlysats markiert der Antikörper ein Protein mit einem Molekulargewicht von 55 kDa, das BSAP entspricht.

### Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (Na $_3$ ), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metallazid-Anreicherung zu vermeiden.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

## Lagerung

Bei 2-8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.

## Gewebevorbereitung

### Paraffinschnitte:

Der Antikörper kann für die Markierung von formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitten verwendet werden.

Es ist eine Vorbehandlung der entparaffinierten Gewebeschnitte durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) erforderlich. Optimale Ergebnisse können durch HIER-Vorbehandlung der Gewebe mit Dako EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (Code-Nr. K8005) oder Dako Target Retrieval Solution (Code-Nr. S1700/S1699) erzielt werden.

Die Vorbehandlung der entparaffinierten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte sollte mit Dako PT Link erfolgen. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Für PT Link sind die folgenden Parameter zu verwenden: Temperatur auf 65 °C vorwärmen; Epitopdemaskierungstemperatur und -zeit: 97 °C für 20 (±1) Minuten; auf 65 °C abkühlen. Die Objektträgerhalter aus dem PT Link-Tank nehmen und die Objektträger sofort in einen Behälter/Tank (z. B. PT Link Rinse Station, Code-Nr. PT109) mit verdünntem, auf Raumtemperatur gebracht EnVision FLEX Wash Buffer (20x) (Code-Nr. K8007) tauchen. Die Objektträger 1-5 Minuten lang im Waschpuffer belassen.

Während der Vorbehandlung oder während des immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte unter keinen Umständen austrocknen. Für eine bessere Haftung der Gewebeschnitte an den Glas-Objektträgern werden Dako Silanized Slides (Code-Nr. S3003) empfohlen.

## Färbeverfahren

Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Bedingungen können je nach Gewebetyp und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Leistung dieses Antikörpers sollte vom Benutzer bei einem Einsatz mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Systemen ermittelt werden.

**Verdünnung:** Monoclonal Mouse Anti-Human B-Cell-Specific Activator Protein, Code-Nr. M7307, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten bei einer 20-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:15 und 1:30 verwendet werden. Die Verdünnung des Antikörpers mit EnVision FLEX Antibody Diluent (Code-Nr. K8006) oder Dako Antibody Diluent (Code-Nr. S0809) wird empfohlen. Als Negativkontrollreagenz wird Dako Negative Control, Mouse IgG1 (Code-Nr. X0931) empfohlen, das auf dieselbe IgG1-Konzentration wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Es wird empfohlen, Antikörper und Negativkontrolle unmittelbar vor deren Verwendung zu verdünnen, außer wenn deren Stabilität im aktuellen Färbeverfahren festgelegt ist.

**Detektionssystem:** EnVision FLEX+, Mouse, High pH (Code-Nr. K8002/K8012), wobei die High pH Target Retrieval Solution dieses Kits durch EnVision FLEX Target Retrieval Solution, Low pH (50x) (Code-Nr. K8005) mit einer Inkubationszeit von 20 Minuten ersetzt wird. Das dem gewählten Detektionssystem beiliegende Verfahren befolgen.

**Qualitätskontrolle:** Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

## Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen ein nukleäres Färbemuster auf.

## Leistungseigenschaften









**Normalgewebe:** Normales lymphoides Gewebe (Lymphknoten, Milz und Mandeln) zeigt starke BSAP-Kernfärbung bei B-Lymphozyten. Alle anderen menschlichen Organe werden jedoch nicht markiert (1).

**Anormales Gewebe:** Der Antikörper markierte 155/169 klassischen Hodgkin-Lymphomen (davon nur 12 mit intensiver Färbung), 155/155 diffusen großzelligen B-Zell-Lymphomen, 41/41 follikulären Lymphomen, 66/66 Mantelzelllymphomen, 11/11 B-Zell-Marginalzonenlymphomen der Milz, 35/35 Burkitt-Lymphomen, 76/76 chronischen lymphatischen Leukämien/kleinzelligen lymphatischen Lymphomen, 11/11 B-lymphoblastischen Leukämien/Lymphomen, 30/30 Haarzellenleukämien, 12/12 nodalen Marginalzonenlymphomen, 6/6 nodulären Hodgkin-Lymphomen mit lymphozytärer Prädominanz, 23/30 posttransplantären lymphoproliferativen Erkrankungen (monomorphe PTLD-B). Eine schwache Färbung wurde in 5/84 Fällen von Dickdarm- und Rektumkarzinomen, 1/26 Fällen von Nierenkrebs, 1/11 Fällen von Blasenkrebs, 4/21 Fällen von Prostatakrebs, 1/14 Fällen von Magenkrebs, 2/4 Karzinomen der Merkel-Zellen, 4/11 neuroendokrinen Karzinomen, 2/16 Fällen von Zervixkrebs und 3/13 Fällen von Eierstockkrebs beobachtet (1). Bei 17 akuten myeloischen Leukämien, 47 angioimmunoblastischen T-Zelllymphomen, 27 aplastischen großzelligen Lymphomen ALK+, 17 aplastischen großzelligen Lymphomen ALK-, 6 chronischen myelogenen Leukämien, 1 extranodalen NK/T-Zelllymphom des nasalen Typs, 1 Hepato-T-Zelllymphom der Milz, 5 Fällen von Mycosis fungoides, 158 unspezifischen peripheralen T-Zelllymphomen (PTCL/U), 6 Plasmazellenmyelomen, 7 T-lymphoblastischen Leukämien/Lymphomen, 1 Panniculitis-ähnlichen T-Zelllymphom, 18 Fällen von Duktus-Pankreaskrebs, 28 Fällen von Leberkrebs, 14 Fällen von Magenkrebs, 38 Fällen von Brustkrebs, 17 Fällen von Uteruskrebs, 46 Sarkomen, 13 Melanomen, 10 Thymomen, 10 Medulloblastomen, 20 Gliomen, 100 Fällen von Lungenkrebs und 21 Fällen von Hodenkrebs wurde keine Markierung gefunden (1).

## References / Bibliographie / Literaturnachweise

- Agostinelli C, Sabatini E, Gjørret JO, Righi S, Rossi M, Mancini M, Piccaluga PP, Bacci F, Marafioti T, Bettini G, Falini B, Pileri SA. Characterization of a new monoclonal antibody against PAX5/BASP in 1525 paraffin-embedded human and animal tissue samples. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18:561-572
- Krenacs L, Himmelmann AW, Quintanilla-Martinez L, Fest T, Riva A, Wellmann A, et al. Transcription factor B-cell-specific activator protein (BSAP) is differentially expressed in B cells and in subsets of B-cell lymphomas. *Blood* 1998;92:1308-16.
- Torlakovic E, Torlakovic G, Nguyen PL, Brunning RD, Delabie J. The value of anti-pax-5 immunostaining in routinely fixed and paraffin-embedded sections: a novel pan pre-B and B-cell marker. *Am J Surg Pathol* 2002;26:1343-50.
- Zhang X, Lin Z, Kim I. Pax5 expression in non-Hodgkin's lymphomas and acute leukemias. *J Korean Med Sci* 2003;18:804-8.
- Nutt SL, Thévenin C, Busslinger M. Essential functions of Pax-5 (BSAP) in pro-B cell development [review]. *Immunobiology* 1997;198:227-35.
- Foss HD, Reusch R, Demel G, Lenz G, Anagnostopoulos I, Hummel M, Stein H. Frequent expression of the B-cell-specific activator protein in Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's disease provides further evidence for its B-cell origin. *Blood* 1999;94:3108-13.
- Mhaweche-Fauceglia P, Saxena R, Zhnag S, Terracciano L, Sauter G, Chadhuri A, Herrmann FR, Penetrante R. Pax-5 immunexpression in various types of benign and malignant tumours: a high-throughput tissue microarray analysis. *J Clin Pathol* 2007;60:709-14.

## Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2°C - 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Use by Utiliser avant Verwendbar bis
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 EC REP	Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft		



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