

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
CD79 α
Clone JCB117
Code M7050**

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD79 α , Clone JCB117, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels B cells and is a useful aid for the classification of B-cell neoplasms of all maturation stages (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 nonimmunologic histochemical stains.

Synonyms for antigen

Ig- α , mb-1 (2).

Summary and explanation

CD79 is a disulphide-linked transmembrane heterodimer with a molecular mass of 82-95 kDa belonging to the immunoglobulin superfamily. It comprises the two glycoproteins, CD79 α , with a molecular mass of 40-45 kDa, and CD79 β , with a molecular mass of 37 kDa. CD79 is non-covalently associated with surface Ig, forming the B-cell receptor complex, which is required for antigen recognition. CD79 is essential for efficient surface expression of the B-cell receptor, and is also necessary for signal transmission into the cytoplasm following antigen-binding to surface Ig. The cytoplasmic portion of CD79 α and CD79 β contains several kinases. Phosphorylation signals via these kinases result in B-cell activation, differentiation and, in some cases, apoptosis (2-4).

The expression of CD79 is largely restricted to B-lineage cells, but CD79 α may be coexpressed with CD3 in a proportion of T-lymphoblastic leukemia/lymphoma (5). In precursor B cells, the CD79 protein chains are already expressed in the cytoplasm (CyCD79). Surface expression of CD79 begins at the pro-B cell stage and persists throughout the B-cell differentiation. CD79 α is more strongly expressed by B cells in the follicular mantle zone than by germinal centre B cells, suggesting that activation of mature B cells downregulates CD79 expression. CD79 expression ceases around the onset of plasma cell differentiation, with only a proportion of plasma cells containing CD79 (2, 4).

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 dialysed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and containing 15 mmol/L NaNa₃.

Clone: JCB117 (1). 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

Recombinant protein containing part of the extracellular portion of the human CD79 α glycoprotein (1).

Specificity

The antibody was clustered as anti-CD79 α at the Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens held in Kobe in 1996 (4).

In Western blotting of Ramos B-cell lysate, the antibody labels a band corresponding to CD79 α under reducing conditions, and a band corresponding to CD79 $\alpha\beta$ under non-reducing conditions (1).

SDS-PAGE analysis of immunoprecipitates formed between the antibody and ¹²⁵I-labeled, mildly denatured, and reduced lysate of Ramos B cells, shows weak reaction with a 43 kDa polypeptide corresponding to CD79 α .

The antibody was tested by flow cytometry against normal peripheral B-cell lines, and against mature and immature B-cell lines (Ramos, Raji, and NALM-1), and was consistently negative, indicating that the epitope recognized is not present, or is not accessible, on living cells. However, the antibody specifically labels B cells in paraffin-embedded tissue sections (4).

Precautions

1. For in vitro diagnostic use.
2. For professional users.
3. 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.
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 user must verify the conditions. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation

Paraffin sections: The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin, B5 fixative, Bouin's fixative, or acetic formalin (1). Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is required. For tissues fixed in formalin, optimal results are obtained with 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. Pre-treatment of tissues with proteinase K was found inefficient. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.

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 CD79 α , Code M7050, 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 and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. 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.

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.

Visualization: Dako EnVision+HRP kits, e.g. Code K4005, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Product-specific limitations

Of 149 cases of T-lymphoblastic leukemia/lymphoma, 10% showed sufficiently extensive CD79 α labeling with the antibody (more than 90% labeled cells) to cause assessment problems. All of the 149 T-cell neoplasms were, however, labeled for the T-cell marker CD3, while none of 68 cases of B-lymphoblastic leukemia/lymphoma were CD3 labeled (5).

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display staining of the cell membrane and/or the cytoplasm.

Performance characteristics

Normal tissues: Normal plasma cells in tissue samples are strongly labeled with the antibody (1). In tonsil the antibody strongly labels B cells in the germinal center and the mantle zone, and B cells present in T-cell areas.

Abnormal tissues: The antibody labeled all of 331 B-cell neoplasms, including 41 lymphoblastic lymphomas/leukemias, 28 small lymphocytic, 36 lymphoplasmacytoid, 17 mantle cell, 53 follicular, 29 MALT, 95 large cell, and 7 Burkitt's lymphomas. Additionally, 15/15 hairy cell leukemias, 13/15 B-cell anaplastic large cell lymphomas, and 10/20 myelomas/plasmacytomas were labeled with the antibody. In the same study all of 98 T-cell and non-lymphoid neoplasms were not labeled with the antibody, including 9 T-cell lymphoblastic lymphomas/leukemias, 10 mycosis fungoides, 32 peripheral T-cell lymphomas, 8 angioblastic T-cell lymphomas, 11 T-cell anaplastic large cell lymphomas, and 28 acute myeloid leukemias (1). Two later studies (5, 6), have shown immunoreaction with T-cell neoplasms. Thus, in 149 cases of CD3+ T (precursor)-acute lymphoblastic leukemia/lymphoma, 14 cases expressed CD79 α on more than 90% of the blast cells as determined with the antibody. In 55 cases 10-90% of the blast cells were labeled (5). Further, in 4/94 of enteropathy-type intestinal T-cell lymphomas and 1/11 nasal NK/T-cell lymphomas which were CD3+, the majority of tumor cells were labeled by the antibody (6).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD79 α , Clone JCB117, est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). Cet anticorps marque les lymphocytes B et facilite la classification des néoplasmes à lymphocytes B à tous les stades de maturation (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 histochimiques non immunologiques.

Synonymes de l'antigène

Ig- α , mb-1 (2).

Résumé et explication

La CD79 est un hétérodimère transmembranaire à liaison disulfure dont la masse moléculaire est de 82 à 95 kDa et qui appartient à la superfamille des immunoglobulines. Elle se compose de deux glycoprotéines, CD79 α , de masse moléculaire de 40 à 45 kDa, et CD79 β , de masse moléculaire de 37 kDa. La CD79 est associée de manière non covalente avec l'Ig de surface, formant le complexe du récepteur des lymphocytes B, qui est nécessaire à la reconnaissance de l'antigène. La CD79 est essentielle à l'expression de surface efficace du récepteur des lymphocytes B, et est également nécessaire à la transmission du signal vers le cytoplasme après la liaison de l'antigène à l'Ig de surface. La partie cytoplasmique de la CD79 α et de la CD79 β contient plusieurs kinases. Les signaux de phosphorylation via ces kinases entraînent l'activation des lymphocytes B, la différenciation et, dans certains cas, l'apoptose (2-4).

L'expression de la CD79 est largement limitée aux cellules de la lignée B mais la CD79 α peut être coexprimée avec la CD3 dans un certain pourcentage de lymphomes/leucémies à lymphoblastes T (5). Dans les lymphocytes B précurseurs, les chaînes de la protéine CD79 sont déjà exprimées dans le cytoplasme (CyCD79). L'expression de surface de la CD79 commence au stade des cellules pro-B et persiste tout au long de la différenciation des lymphocytes B. La CD79 α est plus fortement exprimée par les lymphocytes B dans la zone du manteau folliculaire que par les lymphocytes B du centre germinatif, ce qui laisse penser que l'activation de lymphocytes B matures régule l'expression de la CD79 à la baisse. L'expression de la CD79 cesse lors du début de la différenciation cellulaire plasmatique, avec seulement une partie des cellules plasmiques qui contiennent la CD79 (2, 4).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du kit 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 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN₃).

Clone : JCB117 (1). **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

Protéine recombinante contenant une partie de la portion extracellulaire de la glycoprotéine CD79 α humaine (1).

Spécificité

L'anticorps a été classé comme un anti-CD79 α à la Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Sixième Conférence et Atelier Internationaux sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains (HLDA)), événement qui s'est tenu à Kobe en 1996 (4).

Dans les analyses par Western blot de lysat de lymphocytes B Ramos, l'anticorps marque une bande correspondant à la CD79 α dans des conditions réductrices, et une bande correspondant à la CD79 α β dans des conditions non réductrices (1).

L'analyse par immunoblot PAGE en présence de SDS d'immunoprécipités formés entre l'anticorps et un lysat de lymphocytes B Ramos, marqués à l'iode ¹²⁵I, légèrement dénaturé, et réduit a montré une faible réaction avec un polypeptide de 43 kDa correspondant à la CD79 α .

L'anticorps a été testé par cytométrie en flux contre des lignées de lymphocytes B normaux périphériques, et contre des lignées de lymphocytes B matures et immatures (Ramos, Raji et NALM-1), et était systématiquement négatif, indiquant que l'épitope reconnu est absent, ou qu'il n'est pas accessible, sur des cellules vivantes. Toutefois, l'anticorps marque de manière spécifique les lymphocytes B dans les coupes de tissu incluses en paraffine (4).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. 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, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
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

Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol, fixateur B5, fixateur de Bouin ou formol acétique (1). Le prétraitement des tissus déparaffinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est nécessaire. Pour les tissus fixés au formol, des résultats optimaux sont obtenus dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0. Des résultats moins optimaux sont obtenus avec la Dako Target Retrieval Solution,

réf. S1700, ou dans un tampon citrate à 10 mmol/L, à pH 6,0. Le prétraitement des tissus par la protéinase K s'est révélé inefficace. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante.

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 CD79 α , réf. M7050, peut être utilisé à une gamme de dilution de 1:25 à 1:50 lorsqu'il est appliqué sur des coupes d'amygdale humaine fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant une restauration d'épitope induite par la chaleur de 20 minutes et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Mouse IgG1, réf. X0931, dilué à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie dans la procédure de coloration en cours, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation ou de les diluer avec le produit Dako Antibody Diluent, réf. S0809.

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

Visualisation : Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+/HRP, réf. K4005. Suivre la procédure incluse dans le kit de visualisation sélectionnée.

Limitations spécifiques du produit

Dans 149 cas de lymphomes/leucémies à lymphoblastes T, 10% ont présenté un marquage suffisamment important de la CD79 α par l'anticorps (plus de 90% de cellules marquées) pour entraîner des problèmes d'évaluation. Cependant, chacun des 149 cas de néoplasmes à lymphocytes T s'est avéré marqué par CD3, le marqueur des lymphocytes T, alors qu'aucun des 68 cas de lymphomes/leucémies lymphoblastiques à lymphocytes B n'était marqué par CD3 (5).

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration de la membrane cellulaire et/ou du cytoplasme.

Performances

Tissus normaux : Les cellules plasmiques normales dans les échantillons de tissus sont fortement marquées par l'anticorps (1). Dans l'amygdale, l'anticorps marque fortement les lymphocytes B du centre germinatif et de la zone du manteau, et les lymphocytes B présents dans les zones des lymphocytes T.

Tissus anormaux : L'anticorps a marqué chacun des 331 néoplasmes à lymphocytes B, dont 41 cas de lymphomes/leucémies à lymphoblastes, 28 lymphomes lymphocytaires à petites cellules, 36 lymphomes lymphoplasmacytoïdes, 17 lymphomes à cellules du manteau, 53 lymphomes folliculaires, 29 cas de MALT, 95 lymphomes à grandes cellules et 7 lymphomes de Burkitt. De plus, 15 cas de leucémies à cellules chevelues sur 15, 13 cas de lymphomes anaplasiques à grands lymphocytes B sur 15 et 10 cas de myélomes/plasmocytomes sur 20 étaient marqués par l'anticorps. Au cours de la même étude, aucun des 98 néoplasmes non lymphoïdes et à lymphocytes T n'a été marqué par l'anticorps, dont 9 cas de lymphome/leucémie à lymphoblastes T, 10 mycoses fongicoïdes, 32 lymphomes périphériques à lymphocytes T, 8 lymphomes angioblastiques à lymphocytes T, 11 lymphomes anaplasiques à grands lymphocytes T et 28 leucémies myéloïdes aiguës (1). Deux études postérieures (5, 6) ont montré une immunoréaction avec les néoplasmes à lymphocytes T. Ainsi, dans 149 cas de lymphomes/leucémies lymphoblastiques aiguës à précurseurs des lymphocytes T positifs à la CD3, 14 cas ont exprimé la CD79 α sur plus de 90% des blastocytes tel que déterminé par l'anticorps. Dans 55 cas, de 10 à 90% des blastocytes étaient marqués (5). De plus, dans 4 cas sur 94 de lymphomes à lymphocytes T intestinal de type entéropathique et dans 1 cas sur 11 de lymphomes à lymphocytes T/NK nasal qui étaient positifs à la CD3, la majorité des cellules tumorales étaient marquées par l'anticorps (6).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD79 α , Clone JCB117, ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Der Antikörper markiert B-Zellen und ist ein nützliches Hilfsmittel zur Klassifizierung von B-Zell-Neoplasien aller Reifestadien (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

Ig- α , mb-1 (2).

Zusammenfassung und Erklärung

CD79 ist ein über Disulfid-Brücken verbundenes Transmembran-Heterodimer mit einem Molekulargewicht von 82-95 kDa und gehört zur Superfamilie der Immunglobuline. Es umfasst die beiden Glykoproteine CD79 α , mit einem Molekulargewicht von 40-45 kDa, und CD79 β mit einem Molekulargewicht von 37 kDa. CD79 ist nicht-kovalent mit dem Oberflächen-Ig assoziiert. Dabei entsteht der B-Zellrezeptor-Komplex, der für die Antigenerkennung erforderlich ist. CD79 ist für eine effiziente Oberflächenexpression des B-Zellrezeptors unerlässlich und ist ebenfalls notwendig bei der Signalübertragung in das Zytoplasma nach Bindung des Antigens an Oberflächen-Ig. Der zytoplasmatische Anteil von CD79 α und CD79 β enthält mehrere Kinasen. Phosphorylierungssignale über diese Kinasen führen zu B-Zell-Aktivierung, -Differenzierung und in einigen Fällen zur Apoptose (2-4).

Die Expression von CD79 ist weitgehend auf Zellen der B-Zelllinie beschränkt, CD79 α kann jedoch mit CD3 ko-exprimiert werden, wobei das Verhältnis dem von T-lymphoblastischer Leukämie/T-lymphoblastischen Lymphom entspricht (5). In Vorläufer-B-Zellen werden die CD79-Proteinketten bereits im Zytoplasma exprimiert (CyCD79). Die Oberflächenexpression von CD79 beginnt während der Pro-B-Zell-Phase und dauert während der gesamten B-Zelldifferenzierung an. CD79 α wird von B-Zellen in der folliculären Mantelzone stärker exprimiert als von B-Zellen des Keimzentrums, was darauf hinweist, dass die Aktivierung reifer B-Zellen die CD79-Expression herunterreguliert. Die CD79-Expression wird zu Beginn der Plasmazelldifferenzierung beendet, wobei nur ein Teil der Plasmazellen CD79 enthält (2, 4).

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, Gewebevorbereitung, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Monoklonale Mausantikörper in flüssiger Form als gegen 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 und 15 mmol/L Na₃N₃ dialysierter Zellkulturüberstand.

Klon: JCB117 (1). **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

Rekombinantes Protein, das einen Teil der extrazellulären Domäne des menschlichen CD79 α -Glykoproteins enthält (1).

Spezifität

Der Antikörper wurde 1996 bei dem/der Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (6. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten-Differenzierungsantigene) in Kobe als Anti-CD79 α geclustert (4).

Beim Western-Blotting von Ramos-B-Zellysats markiert der Antikörper unter reduzierten Bedingungen eine CD79 α entsprechende Bande und unter nicht reduzierten Bedingungen eine Bande, die CD79 α β entspricht (1).

Die SDS-PAGE-Analyse der Immunpräzipitate, die zwischen dem Antikörper und ¹²⁵I-markierten, schwach denaturierten und reduzierten Lysaten aus Ramos-B-Zellen entstehen, zeigt eine schwache Reaktion mit einem 43-kDa-Polypeptid, das CD79 α entspricht.

Der Antikörper wurde anhand der Durchflusszytometrie im Vergleich zu normalen peripheren B-Zelllinien sowie im Vergleich zu reifen und unreifen B-Zelllinien (Ramos, Raji und NALM-1) getestet und war durchwegs negativ, was darauf hinweist, dass das erkannte Epitop auf lebenden Zellen nicht vorhanden oder nicht zugänglich ist. In paraffineingebetteten Schnitten markiert der Antikörper jedoch spezifisch B-Zellen (4).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.

- Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), 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 Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
- Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
- Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
- 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 paraffineingebetteten, in Formalin, B5, Bouin-Lösung oder saurem Formalin fixierten Gewebeschnitten verwendet werden (1). Die Vorbehandlung des Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ist erforderlich. Bei in Formalin fixiertem Gewebe werden optimale Resultate mit 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0, erzielt. Weniger optimale Resultate werden mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, oder 10 mmol/L Zitratpuffer, pH 6,0, erzielt. Die Vorbehandlung der Gewebe mit Proteinase K erwies sich als wirkungslos. Während der Gewebepreparierung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

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 CD79 α , Code-Nr. M7050, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von menschlichem Mandelgewebe bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:25 und 1:50 verwendet werden. Als Negativkontrolle wird Dako Mouse IgG1, Code-Nr. X0931, empfohlen, das auf dieselbe Konzentration an Maus-IgG wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Falls die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle für das verwendete Färbeverfahren nicht erwiesen ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor der Verwendung bzw. in Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, zu verdünnen.

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

Detektionssystem: Dako EnVision+/HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4005) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Detektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.

Produkt spezifische Beschränkungen

Von 149 Fällen T-lymphoblastischer Leukämien/lymphoblastischer Lymphome zeigten 10% eine ausreichend deutliche CD79 α -Markierung mit dem Antikörper (mehr als 90% markierte Zellen), um Bewertungsprobleme zu verursachen. Alle der 149 T-Zellneoplasmen wurden jedoch vom T-Zellmarker CD3 markiert, während keiner von 68 Fällen der B-lymphoblastischen Leukämien/Lymphome CD3-markiert wurde (5).

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen eine Färbung der Zellmembran und/oder des Zytoplasma auf.

Leistungseigenschaften









Normale Gewebe: Normale Plasmazellen in Gewebeproben werden stark vom Antikörper markiert (1). In Mandelgewebe markiert der Antikörper B-Zellen in den Keimzentren und der Mantelzone sowie B-Zellen in T-Zellbereichen stark.

Anormale Gewebe: Der Antikörper markierte alle 331 B-Zellneoplasmen, einschließlich 41 lymphoblastische Lymphome/Leukämien, 28 kleinzellige, 36 lymphoplasmazytoide, 17 Mantelzell-, 53 folliculäre, 29 MALT-, 95 großzellige und 7 Burkitt-Lymphome. Darüber hinaus wurden 15 von 15 Haarzellleukämien, 13 von 15 anaplastischen großzelligen B-Zelllymphomen und 10 von 20 Myelomen/Plasmazytomen vom Antikörper markiert. In der gleichen Studie wurden alle 98 T-Zell- und nicht-lymphoiden Neoplasmen nicht vom Antikörper markiert, darunter 9 T-Zell-lymphoblastische Lymphome/Leukämien, 10 Mycosis fungoides, 32 periphere T-Zelllymphome, 8 angioblastische T-Zelllymphome, 11 anaplastisch-großzellige T-Zell-Lymphome und 28 akute myeloide Leukämien (1). Zwei spätere Studien (5, 6) haben eine Immunreaktivität mit T-Zellneoplasmen gezeigt. Somit wurde mit Hilfe des Antikörpers gezeigt, dass von den 149 CD3-positiven Fällen von T-(Vorläufer)-akuter lymphoblastischer Leukämie/lymphoblastischem Lymphom in 14 Fällen CD79 α auf mehr als 90% der Blastzellen exprimiert wurde. In 55 Fällen wurden 10-90% der Blastzellen markiert (5). Darüber hinaus wurde in 4 von 94 intestinalen T-Zelllymphomen vom enteropathischen Typ und in 1 von 11 nasalen CD3-positiven NK/T-Zelllymphomen die Mehrheit der Tumorzellen durch den Antikörper markiert (6).

Referenzen Bibliographie/ Literatur

- Mason DY, Cordell JL, Brown MH, Borst J, Jones M, Pulford K, et al. CD79a: a novel marker for B-cell neoplasms in routinely processed tissue samples. *Blood* 1995;86:1453-9.
- Comans-Bitter WM, De Bruin-Versteeg S, Broe MK, De Groot R, De Vries E, Van Dongen JJM. BC20.1. CD79 workshop: intracellular CD79 expression in precursor B cells tested with the CD79 panel of monoclonal antibodies. 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. 182-4.
- Nakamura T. CD guide. CD79 α and CD79 β . 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. 1172.
- Nakamura T. BC20. CD79 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. 180-2.
- Pilozzi E, Pulford K, Jones M, Müller-Hermelink H-K, Falini B, Raffkiaer E, et al. Co-expression of CD79a (JBC117) and CD3 by lymphoblastic lymphoma. *J Pathol* 1998;186:140-3.
- Blakolmer K, Vesely M, Kummer JA, Jurecka W, Mannhalter C, Chott A. Immunoreactivity of B-cell markers (CD79a, L26) in rare cases of extranodal cytotoxic peripheral T- (NK/T-) cell lymphomas. *Mod Pathol* 2000;13:766-72.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2 °C - 8 °C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser avant Verwendbar bis
 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	 Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung	 Manufacturer Fabricant Hersteller
 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 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