



Monoclonal Mouse Anti-Human CD30 Clone Ber-H2 Code M0751

ENGLISH

Intended use
For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD30, Clone Ber-H2, is intended for use in immunohistochemistry. The antibody labels anaplastic large-cell lymphoma (ALCL) and Reed-Sternberg cells, and is a useful tool for the identification of ALCL and as a secondary marker for Hodgkin's disease (1). Differential identification 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.

Synonym for antigen
Ki-1 antigen (1).

Introduction
CD30 is a transmembrane cytokine receptor belonging to the tumour necrosis factor (TNF) receptor superfamily. Mature CD30 has a molecular mass of 120 kDa and is derived from a 90 kDa precursor protein (2). The extracellular domain of CD30 is homologous to that of TNF receptor superfamily members, whereas there is no homology in the cytoplasmic domain, suggesting major differences in signalling mechanisms (3). The intracellular part of CD30 possesses kinase activity, indicating that CD30 plays a role in regulating the function, differentiation and/or proliferation of normal lymphoid cells (2). A soluble 85 kDa form of CD30, sCD30, released from the membrane-bound molecule by proteolytic cleavage, can be detected in the sera of patients with CD30-expressing neoplasms (3, 4).

CD30 expression is found on Hodgkin and Reed-Sternberg (H-RS) cells, anaplastic large-cell lymphoma cells, and on activated B and T lymphocytes (2). In non-lymphoid tissues and neoplasms, CD30 expression has been confirmed in embryonal carcinomas, seminomas, decidual cells and mesotheliomas (5).

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: Ber-H2 (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
Co cell line established from a patient with Hodgkin's disease of T-cell lineage (1, 6).

Specificity
The antibody was clustered as anti-CD30 at the Fourth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens held in Vienna in 1989 (7).

SDS-PAGE analysis of immunoprecipitates formed between lysate of ¹²⁵I-labelled COS cells transfected with cDNA encoding CD30 and the antibody shows reaction with a 120 kDa protein corresponding to CD30. Mock-transfected COS cells were negative. The epitope recognized by the antibody is located between amino acid residues 112 and 412 (8).

The antibody labels: Cell lines derived from Hodgkin's disease, L428, L540, L591, Co, Ho and KM-H2; HTLV-1 transfected T-cell lines, Hut-102 and MT-2; EBV-transformed B-cell lines (non-Burkitt), B95-8 (monkey), BJA-B and Cess; and the myeloid cell line, K 562 (1).

Precautions

- For professional users.
- 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.
- As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
- Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
- 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 heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, code S1700, or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0 Less optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, High pH, code S3308, 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.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labelling acetone-fixed frozen sections and cytospin preparations (1, 5).

Staining procedure

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human CD30, code M0751, may be used at a dilution range of 1:20-1:40 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of Hodgkin's lymphomas or ALCL and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval Solution, code S1700, 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, codes. 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 immunohistochemical staining using automated platforms, such as the Dako Autostainer.

Product-specific limitations

A diffuse or finely granular cytoplasmic staining was observed in the endothelial cells in 21/33 cases of haemangioma, 4/10 cases of lymphangioma, 4/9 cases of mixed tumours with both components, and 6/10 cases of angioleiomyoma (9).

Performance characteristics

Cells labelled by the antibody display a membrane and/or a dot like cytoplasmic staining (1).

(104932-004)	M0751/EFG/KRM/2008.09.30 p. 1/4
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	



Normal tissues: In tonsil/lymph node sections, the antibody labels scattered large lymphoid cells localized around lymph follicles and at the margin of germinal centres. In paraffin sections, but not in frozen sections, a subpopulation of plasma cells is positive. In the thymus, only a few medullary thymocytes is labelled. In a large range of non-lymphoid tissues, no labelling with the antibody was observed with two exceptions, the cytoplasm of exocrine pancreatic cells was labelled diffusely in both frozen and paraffin-embedded sections, and the cytoplasm of a proportion of cerebral cortical neurons and Purkinje cells of the cerebellum were labelled in paraffin-embedded sections, but not frozen sections. The antibody did not react with any resting peripheral lymphocytes or monocytes (1).

Abnormal tissues: In paraffin-embedded sections of anaplastic large-cell lymphoma, the antibody strongly labelled all of 60 cases. No differences were observed in labelling between T-, B- or null-cell phenotypes. Likewise, all of 22 frozen sections of ALCL were labelled. In paraffin-embedded sections of Hodgkin's disease, 61/61 cases of nodular sclerosis, 53/53 cases of mixed cellularity, 8/10 cases of lymphocyte-depleted, and 4/13 cases of lymphocyte-predominance type were labelled by the antibody. In frozen sections, all of 108 tested cases were positive (1). In non-Hodgkin's lymphomas, a weak staining of a subpopulation of tumour cells was seen in 11/11 cases of lymphomatoid papulosis, 62/93 cases of cutaneous-, pleomorphic-, angioimmunoblastic-, and lymphoepithelioid- T-cell lymphomas, and in 53/332 cases of chronic lymphocytic-, centrocytic- (small cleaved), centroblastic-centrocytic-, centroblastic-, and immunoblastic- B-cell lymphomas in frozen and paraffin-embedded sections, whereas a strong staining was seen in 20/67 cases of lymphoplasmocytoid/cytic- B-cell lymphomas (1). In non-lymphoid neoplasms, the antibody labels tumour cells in 48/50 cases of pure embryonal carcinoma (EC), or EC components of germ cell tumours. In cases of mixed and pure germ cell tumours without EC components 0/27 was labelled. In activated mesothelium, 16/28 pleural and peritoneal effusions were positive with the antibody, small foci of tumour cells in 2/8 mesotheliomas were also positive (5). No labelling was observed in 8 cases of Kaposi's sarcoma and 8 cases of teleangiectatic granuloma (9).

FRANÇAIS

Intérêt
Pour diagnostic in vitro.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD30, Clone Ber-H2, est destiné à un usage en immunohistochimie. L'anticorps marque le lymphome anaplasique à grandes cellules (ALCL) et les cellules de Reed-Sternberg, et c'est un moyen utile d'identification de l'ALCL et un marqueur secondaire pour la maladie de Hodgkin (1). L'identification différentielle est facilitée par les résultats 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.

Synonyme de l'antigène
Antigène Ki-1 (1).

Résumé et explication

CD30 est un récepteur transmembranaire de cytokines appartenant à la superfamille des récepteurs du facteur nécrosant les tumeurs -TNF (ou cachectine). Le récepteur CD30 mature a une masse moléculaire de 120 kDa et il est dérivé d'une protéine précurseur de 90 kDa (2). Le domaine extracellulaire de CD30 est homologue à celui des membres de la superfamille des récepteurs du TNF, alors qu'il n'existe pas d'homologie dans le domaine cytoplasmique, ce qui semble indiquer des différences majeures dans le mécanisme de transmission des signaux (3). La partie intracellulaire de CD30 possède une activité kinase, indiquant que CD30 joue un rôle dans la régulation, la différenciation et/ou la prolifération des cellules lymphoïdes normales (2). Une forme soluble de 85 kDa de CD30, sCD30, libérée de la molécule liée à la membrane par clivage protéolytique, peut être détectée dans le sérum des patients atteints de néoplasmes exprimant CD30 (3,4).

On peut observer l'expression de CD30 sur les cellules de Hodgkin et de Reed-Sternberg (H-RS), dans les cellules des lymphomes anaplasiques à grandes cellules et sur les lymphocytes B et T activés (2). Dans les tissus et les néoplasmes non lymphoïdes, l'expression de CD30 a été confirmée dans les carcinomes de l'embryon, les séminomes, les cellules déciduales et les mésothéliomes (5).

Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris à l'état liquide sous forme de surnageant de culture cellulaire, obtenu par dialyse contre une solution Tris/HCl à 0,05 mol/L, à pH 7,2 et contenant 15 mmol/L de NaN₃.

Clone : Ber-H2 (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

Lignée cellulaire Co établie à partir d'un patient atteint de la maladie de Hodgkin de lignée lymphocytaire T (1, 6).

Spécificité

L'anticorps a été intégré comme anti-CD30 au cours de la Quatrième Conférence-Atelier Internationale sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains qui s'est tenue à Vienne en 1989 (7).

L'analyse SDS-PAGE des immunoprécipités formés entre le lysat de cellules COS marquées à l'¹²⁵I transfectées avec l'ADNc encodant la molécule CD30 et l'anticorps montre une réaction avec une protéine de 120 kDa correspondant à CD30. Les cellules COS dont la transfection a été simulée étaient négatives. L'épitope reconnu par l'anticorps est situé entre les résidus d'acides aminés 112 et 412 (8).

L'anticorps marque: les lignes cellulaires dérivées de la maladie de Hodgkin L428, L540, L591, Co, Ho et KM-H2 ; les lignes cellulaires T transfectées HTLV-1, Hut-102 et MT-2 ; les lignes cellulaires B transformées par l'EBV (non Burkitt), B95-8 (singe), BJA-B et Cess et la ligne cellulaire myéloïde K 562 (1).

Précautions d'emploi

- Pour utilisateurs professionnels.
- Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. Bien qu'il ne soit pas classé comme dangereux aux concentrations présentes dans le produit, l'azide de sodium est susceptible de réagir avec les parties en plomb et en cuivre des tuyauteries pour former des dépôts hautement explosifs d'azides métalliques. Lors de l'élimination du produit, rincer avec de grandes quantités d'eau pour éviter toute accumulation d'azides métalliques dans la tuyauterie.
- Comme pour tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être utilisées.
- Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
- Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 °C et 8 °C. Ne pas utiliser après la d ate de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles préconisées, les conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Aucun signe visible n'indique l'instabilité du produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être traités 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 si un problème avec le produit est suspecté, contacter nos Services Techniques.

Préparation de l'échantillon

Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Un prétraitement des tissus par restauration de l'épitope par la chaleur est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus avec Dako Target Retrieval Solution, code S1700, ou en tampon Tris 10 mmol/L, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0. Des résultats moins optimaux sont obtenus avec Dako Target Retrieval Solution, High pH, code S3308 ou en tampon citrate à 10 mmol/L, pH 6,0. Le prétraitement des tissus par la protéinase K est inefficace. Les coupes de tissu ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure de marquage immunohistochimique qui suit.

Coupes congelées et préparations cellulaires : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes congelées fixées à l'acétone et des préparations sur cytopspins (1, 5).

Procédure d'immunomarquage

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human CD30, Code M0751, peut être dilué entre 1:20 et 1:40 pour une utilisation sur coupes de lymphome de Hodgkin ou d'ALCL incluses en paraffine, fixées par le formol, avec une restauration de l'épitope par la chaleur pendant 20 minutes dans Dako Target Retrieval, code S1700, 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 elles doivent être déterminées par chaque laboratoire. Le contrôle négatif recommandé est Dako Mouse IgG1, code X0931, ajusté à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire. A moins que

(104932-004)	M0751/EFG/KRM/2008.09.30 p. 2/4
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	

