

Monoclonal Mouse Anti-Human CD31, Endothelial Cell
Clone JC70A
Code M0823

ENGLISH	
Intended use	For in vitro diagnostic use. Monoclonal Mouse Anti-Human CD31, Endothelial Cell, Clone JC70A, is intended for use in immunohistochemistry. The antibody primarily labels endothelial cells, and is a useful tool for the identification of benign and malignant vascular disorders, including angiosarcomas (1, 2). In addition, the antibody is valuable for the labelling of vessels when determining angiogenesis in several types of tumours (3-5). 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	PECAM-1 (platelet/endothelial cell adhesion molecule 1) (6).
Summary and explanation	CD31 is a single chain type 1 transmembrane protein with a molecular mass of approximately 135 kDa, belonging to the immunoglobulin superfamily. In human serum, alternatively spliced versions of CD31 have been detected, including a form apparently lacking a transmembrane domain, but including the cytoplasmic tail (6). CD31 binds in both a homophilic and heterophilic manner. The heterophilic ligands include heparan sulfate glycosaminoglycans, heparin, and the integrin $\alpha\beta 3$. CD31 plays a role in adhesive interactions between adjacent endothelial cells as well as between leucocytes and endothelial cells. The ligation of CD31 to the surfaces of leucocytes results in upregulation of the functional leucocyte integrins, and the leucocyte diapedesis across the endothelium involves homophilic CD31 interactions. In addition, heterophilic CD31 interaction has a separate role in the migration of monocytes across the subendothelial basal lamina (6). CD31 is expressed on all continuous endothelia, including those of arteries, arterioles, venules, veins, and non-sinusoidal capillaries, but it is not expressed on discontinuous endothelium in e.g. splenic red pulp. In addition, CD31 is expressed diffusely on the surfaces of megakaryocytes, platelets, myeloid cells, natural killer cells, and some subsets of T cells, as well as on B-cell precursors (6).
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 NaN ₃ . <u>Clone:</u> JC70A (1). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Mouse IgG concentration:</u> 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	Cell membrane preparation from the spleen of a patient with hairy cell leukaemia (1).
Specificity	The antibody was clustered as anti-CD31 at the Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (7). The epitope recognized was found to be within the extracellular domain 1 (6). In Western blotting of membrane preparations from a spleen rich in the antigen or from normal platelets, the antibody labels bands of respectively 100 kDa and 130 kDa, the latter corresponding to classic CD31. The smaller band of 100 kDa observed with the splenic preparation may be due to proteolytic breakdown or to variations in glycosylation (1).
Precautions	1. For professional users. 2. This product contains sodium azide (NaN ₃), 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	<u>Paraffin sections:</u> 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, 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 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0 and pre-treatment of tissues with proteinase K. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. <u>Frozen sections and cell preparations:</u> The antibody can be used for labelling frozen sections and cell preparations (1).
Staining procedure	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human CD31, Endothelial Cell, code M0823, may be used at a dilution range of 1:20-1:40 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil 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. <u>Visualization:</u> 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 No. K 0670, is a good alternative if endogenous peroxidase staining is a concern. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.
Performance characteristics	Cells labelled by the antibody predominantly display staining of the cell membrane, with weaker cytoplasmic staining. <u>Normal tissues:</u> The antibody labels endothelial cells in a wide range of tissues, including endothelium in renal glomerular capillaries and the endothelium of vasa vasorum. In addition, the antibody labels megakaryocytes and occasional plasma cells in bone marrow (1). In frozen sections of human tonsil and spleen the antibody labels some non-endothelial cells, including some mantle zone B cells and T cells. In blood smears, the antibody labels neutrophil polymorphs, 50% of the lymphocytes, all of the monocytes, and platelets (1).

(102467-002)

M0823/EFG/KRM/2008.09.30 p. 1/4

Abnormal tissues: The antibody labels endothelial cells in a variety of benign and malignant vascular lesions. In 10/10 (1) and 6/7 (2) angiosarcomas, respectively, the antibody labelled malignant vascular endothelial cells. Further, the antibody labelled 17/17 (2) and 3/3 (1) hemangiomas, respectively, 3/3 epithelioid hemangiomas, 1/1 papillary endovascular angioendothelioma (2), 3/3 angiofibromas, 2/2 angiokeratomas, 1/1 hemangiopericytoma, 1/1 chemodectoma, 3/3 atrial myxomas and 2/2 cystic hygromas (1). In addition, the antibody labelled endothelial cells in tumour tissues with angiogenesis (3-5). In lymphangiomas discrepant results have been observed as the antibody was reported to label 8/8 (2) and 0/4 (1) cases, respectively. Likewise for glomus tumours, where 2/2 (1) and 0/7 (2) cases were labelled by the antibody. No labelling was observed in one case each of lymphoepithelial cyst and pneumatosis coli (1), negative were also all of 30 benign, and 4 malignant nerve sheath tumours, 11 dermatofibromas, 28 dermatofibrosarcoma protuberans, 6 leiomyomas, 3 leiomyosarcomas, 3 giant cell fibroblastomas (2), 52 rhabdomyosarcomas, 16 small round cell tumours, 11 neuroblastomas, 23 Wilms' tumours, 20 retinoblastomas, 13 esthesioneuroblastomas, and 7 small noncleaved cell malignant lymphomas. Additionally, spindle cells in 17 cases of Kaposi's sarcomas were uniformly negative (8).

FRANÇAIS	
Intérêt	Pour diagnostic in vitro. Monoclonal Mouse Anti-Human CD31, Endothelial Cell, Clone JC70A, est destiné pour un usage en immunohistochimie. L'anticorps marque essentiellement les cellules endothéliales, et il constitue un outil très utile pour l'identification des troubles vasculaires bénins ou malins dont les angiosarcomes (1, 2). De plus, l'anticorps est très utile pour le marquage des vaisseaux lors de la détermination des angiogénèses dans plusieurs types de tumeurs (3-5). L'identification différentielle s'appuie sur les résultats obtenus à l'aide 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
Synonyme pour l'antigène	PECAM-1 (molécule 1 d'adhésion des plaquettes et des cellules endothéliales) (6).
Résumé et explication	CD31 est une protéine transmembranaire à chaîne simple de type 1 d'une masse moléculaire d'environ 135 kDa, affiliée à la superfamille des immunoglobulines. Dans le sérum humain, des versions de CD31 épissées alternativement ont été détectées, dont une forme apparemment sans domaine transmembranaire mais présentant une expansion cytoplasmique (6). CD31 entre dans des liaisons de type homophile et hétérophile. Les ligands hétérophiles comprennent les glycosaminoglycane de sulfate d'héparan, l'héparine, et l'intégrine $\alpha\beta 3$. CD31 joue un rôle dans les interactions adhésives entre cellules endothéliales adjacentes et également entre leucocytes et des cellules endothéliales. La liaison de CD31 à la surface des leucocytes provient d'une régulation en amont des intégrines des leucocytes fonctionnels, et la diapédèse des leucocytes à travers l'endothélium met en jeu des interactions homophiles avec CD31. De plus, l'interaction hétérophile avec CD31 joue un rôle séparé dans la migration des monocytes à travers la lamina basale sub-endothéliale (6). CD31 est exprimé dans tous les endothélia continus, y compris ceux des artères, des artérioles, des veinules, des veines et des capillaires non sinusoidaux, mais il n'est pas exprimé dans l'endothélium discontinu comme celui de la pulpe rouge splénique. De plus, CD31 est exprimé de façon diffuse à la surface des mégacaryocytes, des plaquettes, des cellules myéloïdes, des lymphocytes NK, et certains sous-groupes de lymphocytes-T, ainsi que sur les précurseurs de lymphocytes-B (6).
Réactif fourni	L'anticorps de souris monoclonale 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 NaN ₃ . <u>Clone:</u> JC70A (1). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Concentration IgG de Souris:</u> 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	Préparation de membrane cellulaire de la rate d'un patient atteint de leucémie tricholeucocytaire (1).
Spécificité	L'anticorps a été classé comme anti-CD31 à la Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (7). L'épitope reconnu a été trouvé dans le domaine extracellulaire 1 (6). En transfert de type Western des préparations de membranes provenant de rate riche en antigène ou provenant de plaquettes normales, l'anticorps marque des bandes de poids moléculaire respectifs 100 kDa et 130 kDa; cette dernière correspondant typiquement à CD31. La plus petite bande à 100 kDa observée dans la préparation splénique pourrait être due à une rupture protéolytique ou à des variations dans les processus de glycosylation (1).
Précautions d'emploi	1. Pour utilisateurs professionnels. 2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN ₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. 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 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 Services Techniques de Dako.
Préparation de l'échantillon	<u>Coupes en paraffine:</u> L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes de tissus incluses en paraffine, fixées au formol. Le prétraitement des tissus par démasquage de l'épitope induite par la chaleur est requis Des résultats optimaux sont obtenus par restauration de l'épitope par la chaleur dans la solution de démasquage Dako Target Retrieval Solution, code S1700, Dako Target Retrieval Solution, pH élevé, code S3308, ou le tampon Tris 10 mmol/l, EDTA 1 mmol/l, à 9,0 de pH. Des résultats plus faibles sont obtenus avec le tampon citrate 10 mmol/l, pH 6.0 et le prétraitement des tissus à la Protéinase K. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure d'immunomarquage immunohistochimique suivante. <u>Coupes congelées et préparations cellulaires:</u> L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes congelées (1) et des préparations de cellules (1).
Procédure d'immunomarquage	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human CD31, Endothelial Cell, code M 0823, peut être dilué entre 1:20 et 1:40 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 Dako Target Retrieval solution, 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 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.

(102467-002)

M0823/EFG/KRM/2008.09.30 p. 2/4

Wichtig: Die folgenden Informationen sind für die Verwendung des Produkts erforderlich. Bitte lesen Sie die gesamte Gebrauchsanweisung sorgfältig durch, bevor Sie das Produkt verwenden. Die Informationen sind in deutscher Sprache dargestellt. Die Informationen sind in anderen Sprachen ebenfalls verfügbar. Bitte wenden Sie sich an den Hersteller für weitere Informationen.

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 peroxydasique est à craindre. Suivre la procédure incluse avec le kit de révélation choisi.

Performances Les cellules marquées par l'anticorps montrent un marquage de la membrane cellulaire, avec un marquage cytoplasmique plus faible.

Tissus normaux: L'anticorps marque les cellules endothéliales dans de nombreux tissus dont l'endothélium des capillaires glomérulaires du rein et l'endothélium du vasa vasorum. De plus, l'anticorps marque les mégacaryocytes et occasionnellement les cellules plasmatiques de la moelle osseuse (1). Dans les coupes congelées de l'amygdale humaine et de la rate, l'anticorps marque certaines cellules non endothéliales, y compris certains lymphocytes-B et -T de la zone en mantelet. Dans les frottis sanguins, l'anticorps marque les polymorphes neutrophiles, 50% des lymphocytes, tous les monocytes, et les plaquettes (1).

Tissus anormaux: L'anticorps marque les cellules endothéliales dans bon nombre de lésions vasculaires bénignes et malines. Dans 10/10 (1) et 6/7 (2) cas d'angiosarcomes, l'anticorps a marqué respectivement, les cellules endothéliales vasculaires malines. De plus, l'anticorps a également marqué 17/17 (2) et 3/3 (1) cas d'hémangiomes, respectivement, 3/3 cas d'hémangiomes épithélioïdes, 1/1 cas d'angioendothéliome endovasculaire papillaire (2), 3/3 cas d'angiofibromes, 2/2 cas d'angiokératomes, 1/1 cas d'hémangiopéricytome, 1/1 cas dechémodectomes, 3/3 cas de myxomes atriaux et 2/2 cas d'hygromes cystiques (1). L'anticorps marque également les cellules endothéliales dans les tissus des tumeurs à angiogénésis (3-5). Dans les résidus de lymphangiomes on a rapporté les résultats suivants: l'anticorps marque, respectivement, 8/8 (2) et 0/4 (1) des cas. Il en est de même pour les tumeurs du glomus dont 2/2 (1) et 0/7 (2) cas ont été marqués par l'anticorps. Aucun marquage n'a été observé dans un cas de cyste lymphoépithélia et un cas de pneumatose coli (1); les résultats sont également négatifs pour 30 tumeurs bénignes, et 4 tumeurs malines de la gaine des nerfs, 11 dermatofibromes, 28 dermatofibrosarcomea protuberans, 6 léiomyomes, 3 léiomyosarcomes, 3 fibroblastomes à cellules géantes (2), 52 rhabdomyosarcomes, 16 tumeurs à petites cellules rondes, 11 neuroblastomes, 23 tumeurs de Wilm, 20 rétinoblastomes, 13 esthésioneuroblastomes, et 7 lymphomes malins à petites cellules non clivées. Finalement, les cellules fusiformes ont été uniformément négatives dans 17 cas de sarcomes de Kaposi (8).

DEUTSCH	
Zweckbestimmung	Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen. <p>Monoclonal Mouse Anti-Human CD31, Endothelial Cell, Clone JC70A, ist für den immunhistochemischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper markiert primär Endothelzellen und ist nützlich für die Identifizierung von benignen und malignen vaskulären Erkrankungen, einschließlich von Angiosarkomen (1, 2). Zusätzlich ist der Antikörper wertvoll bei der Markierung von Gefäßen, wenn die Angiogenese in verschiedenen Tumortypen bestimmt wird (3-5). Die differentielle Identifizierung wird durch die mit einem Antikörper-Panel erhaltenen Resultate unterstützt. 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.</p>
Synonyme Bezeichnungen des Antigens	PECAM-1 () (6).
Zusammenfassung und Erklärung	CD31 ist ein Einketten-Transmembranprotein vom Typ 1 mit einer relativen Molekülmasse von ca. 135 kDa und gehört zur Superfamilie der Immunglobuline. Alternativ gespleißte Versionen des CD31 wurden im humanem Serum nachgewiesen, einschließlich einer Form, der offenbar eine transmembranische Domäne fehlte, die aber den zytoplasmatischen Schwanz aufwies (6). CD31 geht sowohl homophile als auch heterophile Bindungen ein. Die heterophilen Liganden umfassen Heparansulfat-Glykosaminoglykane, Heparin und das Integrin αβ3. CD31 spielt eine Rolle bei adhäsiven Interaktionen zwischen benachbarten Endothelzellen sowie zwischen Leukozyten und Endothelzellen. Die Ligation von CD31 an die Oberflächen von Leukozyten resultiert in der Hochregulierung der funktionalen Leukozytenintegrine und die Leukozytendiapedese durch das Endothel schließt homophile CD31-Interaktionen ein. Zusätzlich spielt die heterophile CD31-Interaktion eine gesonderte Rolle bei der Migration von Monozyten durch die Basalmembran des Subendothels (6). <p>CD31 wird auf allen kontinuierlichen Endothelien exprimiert, einschließlich denen von Arterien, Arteriolen, Venolen, Venen und nicht sinusoiden Kapillaren, jedoch wird es auf diskontinuierlichen Endothelien wie beispielsweise in der roten Pulpa der Milz nicht exprimiert. Zusätzlich wird CD31 diffus auf den Oberflächen von Megakaryozyten, Thrombozyten, Myeloidzellen, natürlichen Killerzellen und einigen Unterarten von T-Zellen sowie auf den Vorläufern von B-Zellen exprimiert (6).</p>
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 NaNs. <p>Klon: JC70A (1). Isotyp: IgG1, Kappa.</p> <p>Maus-IgG-Konzentration: Siehe Produktetikett.</p> <p>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 Färbeergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.</p>
Immunogen	Präparat der Milz-Zellmembran eines Patienten mit Haarzellenleukämie (1).
Spezifität	Der Antikörper wurde auf dem „Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ als Anti-CD31 eingestuft (7). Das erkannte Epitop wurde innerhalb der extrazellulären Domäne 1 ermittelt (6). <p>Im Westernblot von Membranpräparaten einer Antigen-reichen Milz oder von normalen Thrombozyten markiert der Antikörper Banden von 100 kDa bzw. 130 kDa, wobei die letztere Bande dem klassischen CD31 entspricht. Die kleinere Bande von 100 kDa, die beim Milzpräparat beobachtet wurde, kann möglicherweise auf einen proteolytischen Abbau oder auf Variationen bei der Glykosylierung zurückgeführt werden (1).</p>
Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen	1. Für geschultes Fachpersonal. <p>2. 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.</p> <p>3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.</p> <p>4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.</p> <p>5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.</p>
Lagerung	Bei 2 – 8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Fläschchen angegebenen Verfallsdatum verwenden. Sollten die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt worden sein, 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. Eine Vorbehandlung der Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Ergebnisse werden mit der

(102467-002)	M0823/EFG/KRM/2008.09.30 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	
(102467-002)	M0823/EFG/KRM/2008.09.30 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	





Wichtig: Die folgenden Informationen sind für die Verwendung des Produkts erforderlich. Bitte lesen Sie die gesamte Gebrauchsanweisung sorgfältig durch, bevor Sie das Produkt verwenden. Die Informationen sind in deutscher Sprache dargestellt. Die Informationen sind in anderen Sprachen ebenfalls verfügbar. Bitte wenden Sie sich an den Hersteller für weitere Informationen.

Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, Dako Target Retrieval Solution, pH 9,9, Code-Nr. S3308 oder mit 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0, erhalten. Weniger optimale Resultate werden erhalten mit 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6,0, und einer Vorbehandlung der Gewebe mit Proteinase K. Während der Gewebevorbehandlung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen Färbeprozedur dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und zytologische Präparate: Der Antikörper kann für die Markierung von Gefrierschnitten und Zellpräparaten verwendet werden (1).

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human CD31, Endothelial Cell, Code-Nr. M0823, kann bei einem Verdünnungsbereich von 1:20-1:40 eingesetzt werden, wenn es für formalinfixierte, paraffineingebettete Schnitte der menschlichen Tonsille genutzt wird und wenn 20 Minuten lang die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit Dako Target Retrieval Solution, pH 6,1, Code-Nr. S1700, 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.

Färbeprozedur	Vom Antikörper markierte Zellen weisen vornehmlich eine Färbung der Zellmembran mit einer schwächeren Färbung des Zytoplasmas auf.		
Normalgewebe:	Der Antikörper markiert Endothelzellen in einer großen Vielfalt von Geweben einschließlich des Endothels in renalen, glomerulären Kapillaren und des Endothels der Vasa vasorum. Zusätzlich markiert der Antikörper Megakaryozyten und vereinzelte Plasmazellen im Knochenmark (1). Bei Gefrierschnitten der humanen Tonsille und Milz markiert der Antikörper einige nicht dem Endothel entstammende Zellen, einschließlich einiger B-Zellen und T-Zellen der Mantelzone. In Blutausstrichen markiert der Antikörper neutrophile Polymorphe, 50% der Lymphozyten, alle Monozyten und Thrombozyten (1).		
Anomales Gewebe:	Der Antikörper markiert Endothelzellen bei einer Vielzahl von benignen und malignen vaskulären Läsionen. Bei 10/10 (1) bzw. 6/7 (2) Fällen eines Angiosarkoms markierte der Antikörper maligne vaskuläre Endothelzellen. Weiterhin markierte der Antikörper 17/17 (2) bzw. 3/3 (1) Hämangiome, 3/3 epitheloide Hämangione, 1/1 papilläres endovasculäres Angioendotheliom (2), 3/3 Angiofibrome, 2/2 Angiokeratome, 1/1 Hämangioperizytom, 1/1 Chemodektom, 3/3 atriale Myxome und 2/2 zystische Hygrome (1). Zusätzlich markiert der Antikörper Endothelzellen in Tumorgeweben mit Angiogenese (3-5). Bei Lymphangiomen wurden unterschiedliche Resultate erzielt, da der Antikörper Berichten zufolge 8/8 (2) bzw. 0/4 (1) Fälle markierte. Das Gleiche gilt für Glomustumore, bei denen 2/2 (1) und 0/7 (2) Fälle vom Antikörper markiert wurden. In jeweils einem Fall einer Lymphepithelzyste und einer Pneumatosis coli (1) konnte keine Markierung beobachtet werden und alle der folgenden Fälle testeten ebenfalls negativ: 30 benigne und 4 maligne Nervenscheidentumore, 11 Dermatofibrome, 28 Fälle von Dermatofibrosarcoma protuberans, 6 Leiomyome, 3 Leiomyosarkome, 3 „Riesenzell“-Fibroblastome (Giant Cell oder GCF-Tumore) (2), 52 Rhabdomyosarkome, 16 durch kleine rundliche Zellen gekennzeichnete Tumore, 11 Neuroblastome, 23 Wilms Tumore, 20 Retinoblastome, 13 Ästhesioneuroblastome und 7 kleinzellige nicht zentrozytische Lymphome (small noncleaved cell lymphomas, SNCLL). Zusätzlich testeten die Spindelzellen in 17 Fällen von Kaposi Sarkomen einheitlich negativ (8).		
References/ Références/ Literatur			
<ol style="list-style-type: none">Parums DV, Cordell JL, Micklem K, Heryet AR, Gatter KC, Mason DY. JC70: a new monoclonal antibody that detects vascular endothelium associated antigen on routinely processed tissue sections. J Clin Pathol 1990;43:752-7. DeYoung BR, Swanson PE, Argenyi ZB, Ritter JH, Fitsgibbon JF, Stahl DJ, et al. CD31 immunoreactivity in mesenchymal neoplasms of the skin and subcutis: Report of 145 cases and review of putative immunohistologic markers of endothelial differentiation. J Cutan Pathol 1995;22:215-22. Engel CJ, Bennett ST, Chambers AF, Doig GS, Kerkvliet N, O'Malley FP. Tumor angiogenesis predicts recurrence in invasive colorectal cancer when controlled for Dukes staging. Am J Surg Pathol 1996;20:1260-5. Fox SB, Leek RD, Bliss J, Mansi JL, Gusterson B, Gatter KC, et al. Association of tumor angiogenesis with bone marrow micrometastases in breast cancer patients. J Natl Cancer Inst 1997;89:1044-9. Giatromanolaki A, Koukourakis M, O'Byrne K, Fox S, Whitehouse R, Talbot DC, et al. Prognostic value of angiogenesis in operable non-small cell lung cancer. J Pathol 1996;179:80-8. Muller WA. AS9. CD31 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. 362-4. Fornelli CS, George F, Sampol J, van Agthoven AJ. E6.6. Biochemical analysis of endothelial antigens recognized by workshop mAb. In: Schlossman SF, Boumsell 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. 1791-5. Nicholson SA, McDermott MB, DeYoung BR, Swanson PE. CD31 immunoreactivity in small round cell tumors. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2000;8:19-24.			
Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole			
REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 <p>Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich</p>	 <p>Manufacturer Fabricant Hersteller</p>
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 jus que Verwendbar bis

(102467-002)	M0823/EFG/KRM/2008.09.30 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	
(102467-002)	M0823/EFG/KRM/2008.09.30 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	