



milenia biotec



Mouse Antibody Isotyping Instruction

**Instruction for the Identification of Mouse Monoclonal
Antibody Iso-, Subtypes and Light Chains**

Required components:

Mouse Ab Isotyping Universal Module (Order No. MQUM 1)

Mouse Ab Isotyping Sample Buffers (Order No. MQSBXX)

↳ freely selectable and combinable

English: Page 1-8

Anleitung zur Identifizierung von monoklonalen
Maus-Antikörper Iso-, Subtypen und leichten Ketten

Erforderliche Reagenzien:

Mouse Ab Isotyping Universalmodul (Art. Nr. MQUM 1)

Mouse Ab Isotyping Probenpuffer (Art. Nr. MQSBXX)

↳ Frei wähl- und kombinierbar

Deutsch: Seite 9-16



Milenia Biotec GmbH

Versailler Straße 1

D-35394 Gießen, Germany

Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0

Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80

E-Mail: info@milenia-biotec.de

Web: www.milenia-biotec.de

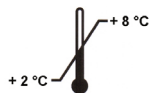






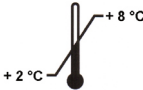



Table of Contents

Explanation of Symbols	3
Warnings and Precautions	3
Required Products, Storage and Stability	4
Additionally Required Materials	5
Intended Use	5
Principle of the Test	5
Test Procedure	5/6
Interpretation of Results	6
Troubleshooting	7
Assay Sensitivity	7
Documentation of Results	7
Quick Reference Guide	8

Explanation of Symbols

Symbols Symbole	Explanation (GB) Erklärung (DE)	Symbols Symbole	Explanation (GB) Erklärung (DE)
	Use by Verwendbar bis		Sufficient for <n> tests Ausreichend für <n> Prüfungen
	Manufacturer Hersteller		Batch code Chargenbezeichnung
	Catalogue number Katalognummer		Consult Instructions for Use Gebrauchsanweisung beachten
	Storage conditions Lagerbedingungen		Consult attended documents Begleitdokumente beachten

Warnings and Precautions

- Read this instruction manual carefully before performing the assay. Follow the sequence of the work steps
- Store reagents at **2°C to 8°C** in original packaging
- Check the expiration date printed on the components
- The disposal of waste materials must be carried out according to current local regulations
- Wear lab coat and protective gloves
- Material safety data sheets are available on request or can be downloaded from www.milenia-biotec.de

Required Products, Storage and Stability

Isotyping monoclonal Mouse-Antibodies

Milenia QuickLine
Mouse Antibody Isotyping
Universal Module *1
(Order No. MQUM 1)

Lateral-Flow Universal Test Strips
essential for the test
2 x 50 tests

Milenia QuickLine
Mouse Antibody Isotyping
Sample Buffer *2
(Order No. MQSBXX)

9 Anti Isotype Buffers available
freely selectable and combinable
each Buffer 10 tests

*1 Milenia QuickLine Mouse Antibody Isotyping **Universal Module** (Order No. MQUM 1):

Product Name	Order No.	Content	Preparation	Storage	Shelf life
Universal Module	MQUM 1	2 x 50 test strips	ready to use	2°C to 8 °C Container must be always closed (protected from moisture)!	until expiry date

*2 Milenia QuickLine Mouse Antibody Isotyping **Sample Buffer** (Order No. MQSBXX, dep. on type):

Product Name	Order No.	Content	Preparation	Storage	Shelf life
Anti-mouse IgG1 Sample Buffer	MQSBG1	0,5 mL	ready to use	2°C to 8 °C	until expiry date
Anti-mouse IgG2a Sample Buffer	MQSBG2A	0,5 mL	ready to use	2°C to 8 °C	until expiry date
Anti-mouse IgG2b Sample Buffer	MQSBG2B	0,5 mL	ready to use	2°C to 8 °C	until expiry date
Anti-mouse IgG2c Sample Buffer	MQSBG2C	0,5 mL	ready to use	2°C to 8 °C	until expiry date
Anti-mouse IgG3 Sample Buffer	MQSBG3	0,5 mL	ready to use	2°C to 8 °C	until expiry date
Anti-mouse IgM Sample Buffer	MQSBM	0,5 mL	ready to use	2°C to 8 °C	until expiry date
Anti-mouse IgA Sample Buffer	MQSBA	0,5 mL	ready to use	2°C to 8 °C	until expiry date
Anti-mouse kappa light chain Sample Buffer	MQSBKLC	0,5 mL	ready to use	2°C to 8 °C	until expiry date
Anti-mouse lambda light chain Sample Buffer	MQSBLLC	0,5 mL	ready to use	2°C to 8 °C	until expiry date

Additionally Required Materials

Important:

In addition to the Universal Module (essential, Order No. MQUM 1) and the individually selected Sample Buffer(s) (Order No. MQSBXX, dep. on type), the following items are required:

- 96-well microtiter plate
Pipets (2-20 µL, 20-200 µL) and tips

Intended Use

The Milenia QuickLine Mouse Antibody Isotyping System, consisting of the Universal Module (Order No. MQUM 1) and Sample Buffer(s) (Order No. MQSBXX, depending on type), is designed for fast and easy identification of mouse antibody isotypes, subtypes and light chains.

For research use only. Not for diagnostic purposes.

Principle of the Test

Knowing the antibody subclass is important when mouse monoclonal antibodies are produced. Hereby the optimal purification method can be chosen for the specific isotype which results in the highest yield of the antibody. Furthermore if there is no antigen available after recloning, positive clones can easily be detected with this test and monoclonality can be verified.

Milenia QuickLine Mouse Antibody Isotyping is a lateral flow immunoassay designed for the determination of mouse monoclonal antibody isotypes, subtypes and light chains within 5 minutes.

The immunoassay can be used for cell culture supernatants and/or purified antibodies.

First the isotype specific Sample Buffer (e.g. anti-mouse IgG1) is pipetted into a well of a 96-well microtiter plate. Subsequently the test sample of unknown antibody subclass is added. If a complex is formed between the Sample Buffer and the test sample, binding to an anti-mouse antibody on the universal test strip will result in a red line formation.

Test Procedure

Important notes:

All reagents must be equilibrated to room temperature (18-28°) before use.

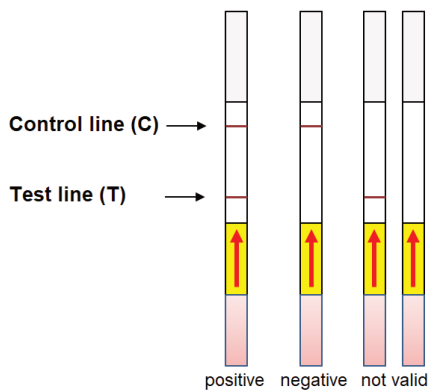
If the antibody concentration is too high, it can lead to a false negative result (high dose hook effect). This may occur when highly concentrated purified antibodies are applied in the test. In this case, samples should be prediluted with 1 X PBS to enter in the working range of the assay (1 – 20 µg/mL).

Test Setup:

1. Pipet **45 µL** of the appropriate **isotype-specific Sample Buffer (MQSBXX)** into a well of a 96-well microtiter plate
2. Add **10 µL** of the **antibody test solution** (about 1-20 µg/mL) and mix well
3. Place one **universal test strip** of the Milenia QuickLine Mouse Antibody Isotyping Universal Module (MQUM 1) into every well
4. Incubate for **5 minutes** at room temperature
5. **Read the results by visual inspection** immediately after incubation time

Note! Test lines developed after this time are without relevance

Interpretation of Results



Positive:

Test line (T) and control line (C) are visible

Specific isotype has been detected (valid pos result)

Note: faint red test line should be reported as positive

Negative:

Only control line (C) is visible

No isotype can be detected (valid neg result)

Not valid:

Only test line (T) or no line visible

Tests are interpreted visually. Examples of test results are shown in the figure above.

The **control line (C)** should be positive in all cases, indicating a successful test.
The **test line (T)** is associated with the presence or absence of the target isotype.

Troubleshooting

Problem	Possible cause(s)	Recommendation
No visible control line	a) damaged test strip	a) repeat test with new test strip
False negative result	a) concentration of purified antibody is too high b) concentration of antibody in cell culture supernatant is too low	a) dilute antibody in 1 X PBS b) use higher amount of antibody
Several test lines occur	a) incubation time was exceeded b) concentration of purified antibody is too high c) more than one antibody present in the sample	a) do not incubate for more than 5 minutes b) dilute antibody in 1 X PBS c) reclone cell line

If no line is visible on the test strip, please contact the Milenia Biotec GmbH customer service.

Assay Sensitivity

Sensitivity varies based on different conditions (purified antibody/cell culture supernatant). Antibody amounts between 1 and 20 µg/mL are detectable.

Documentation of Results

For the purpose of documentaion, it is possible to cut der lower part of the test strip (above the yellow area) after incubation time and, if desired, make photos of the strips.

Note: During drying process, the color of the result lines intensify.

Quick Reference Guide

1. 45 µL isotype specific Sample Buffer
2. 10 µl antibody sample, mix
3. place 1 test strip into well
4. 5 min incubation and read results immediately afterwards

For any questions and suggestions, please contact us:

Telefon: 0 641 – 94 88 83 – 0
Fax: 0 641 – 94 88 83 – 80
E-mail: info@milenia-biotec.de
Web: www.milenia-biotec.de



Mouse Antibody Isotyping Anleitung

Instruction for the Identification of Mouse Monoclonal
Antibody Iso-, Subtypes and Light Chains

Required components:

Mouse Ab Isotyping Universal Module (Order No. MQUM 1)

Mouse Ab Isotyping Sample Buffers (Order No. MQSBXX)

↳ freely selectable and combinable

English: Page 1-8

**Anleitung zur Identifizierung von monoklonalen
Maus-Antikörper Iso-, Subtypen und leichten Ketten**

Erforderliche Reagenzien:

Mouse Ab Isotyping Universalmodul (Art. Nr. MQUM 1)

Mouse Ab Isotyping Probenpuffer (Art. Nr. MQSBXX)

↳ Frei wähl- und kombinierbar

Deutsch: Seite 9-16



Milenia Biotec GmbH

Versailler Straße 1

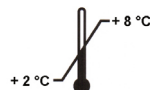
D-35394 Gießen, Germany

Tel.: +49-(0)641-94 88 83 - 0

Fax: +49-(0)641-94 88 83 - 80

E-Mail: info@milenia-biotec.de







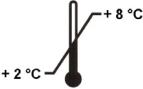

Web: www.milenia-biotec.de



Inhaltsverzeichnis

Erklärung der Symbole	11
Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen	11
Erforderliche Produkte, Lagerung und Stabilität	12
Zusätzlich erforderliches Material	13
Verwendungszweck	13
Testprinzip	13
Testdurchführung	14
Auswertung der Ergebnisse	14
Fehlerbehebung	15
Assay Sensitivität	15
Dokumentation der Ergebnisse	15
Kurzanleitung	16

Erklärung der Symbole

Symbols Symbole	Explanation (GB) Erklärung (DE)	Symbols Symbole	Explanation (GB) Erklärung (DE)
	Use by Verwendbar bis		Sufficient for <n> tests Ausreichend für <n> Prüfungen
	Manufacturer Hersteller		Batch code Chargenbezeichnung
	Catalogue number Katalognummer		Consult Instructions for Use Gebrauchsanweisung beachten
	Storage conditions Lagerbedingungen		Consult attended documents Begleitdokumente beachten

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Diese Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung aufmerksam lesen, Arbeitsschritte beachten
- Die Reagenzien sind bei **2 °C bis 8 °C** in den Originalverpackungen zu lagern
- Die angegebenen Verfallsdaten aller Komponenten sind zu beachten
- Die Abfallentsorgung muss gemäß den örtlichen Bestimmungen durchgeführt werden
- Laborkittel und Einmalhandschuhe tragen
- Sicherheitsdatenblätter sind auf Anfrage erhältlich oder können unter www.milenia-biotec.de heruntergeladen werden

Erforderliche Produkte, Lagerung und Stabilität

Isotypisierung

monoklonaler Maus-Antikörper

Milenia QuickLine
Mouse Antibody Isotyping
Universalmodul *1
(Art.-Nr. MQUM 1)

Lateral-Flow Universalteststreifen
essenziell für den Test
2 x 50 Tests

Milenia QuickLine
Mouse Antibody Isotyping
Probenpuffer *2
(Art.-Nr. MQSBXX)

9 Anti-Isotyp-Puffer verfügbar
frei wähl- und kombinierbar
je Puffer 10 Tests

*1 Milenia QuickLine Mouse Antibody Isotyping **Universalmodul** (Art.-Nr. MQUM 1):

Artikelname	Art-Nr.	Inhalt	Vorbereitung	Lagerung	Haltbarkeit
Universalmodul	MQUM 1	2 x 50 Teststreifen	gebrauchsfertig	2 - 8°C Vorratsgefäß verschlossen halten (Feuchtigkeits- schutz)!	Bis zum MHD

*2 Milenia QuickLine Mouse Antibody Isotyping **Probenpuffer** (Art.-Nr. MQSBXX, je nach Typ):

Artikelname	Art-Nr.	Inhalt	Vorbereitung	Lagerung	Haltbarkeit
Anti-mouse-IgG1 Sample Buffer	MQSBG1	0,5 mL	gebrauchsfertig	2°C bis 8°C	Bis zum MHD
Anti-mouse-IgG2a Sample Buffer	MQSBG2A	0,5 mL	gebrauchsfertig	2°C bis 8°C	Bis zum MHD
Anti-mouse-IgG2b Sample Buffer	MQSBG2B	0,5 mL	gebrauchsfertig	2°C bis 8°C	Bis zum MHD
Anti-mouse-IgG2c Sample Buffer	MQSBG2C	0,5 mL	gebrauchsfertig	2°C bis 8°C	Bis zum MHD
Anti-mouse-IgG3 Sample Buffer	MQSBG3	0,5 mL	gebrauchsfertig	2°C bis 8°C	Bis zum MHD
Anti-mouse-IgM Sample Buffer	MQSBM	0,5 mL	gebrauchsfertig	2°C bis 8°C	Bis zum MHD
Anti-mouse-IgA Sample Buffer	MQSBA	0,5 mL	gebrauchsfertig	2°C bis 8°C	Bis zum MHD
Anti-mouse-kappa light chain Sample Buffer	MQSBKLC	0,5 mL	gebrauchsfertig	2°C bis 8°C	Bis zum MHD
Anti-mouse-lambda light chain Sample Buffer	MQSBLLC	0,5 mL	gebrauchsfertig	2°C bis 8°C	Bis zum MHD

Zusätzlich erforderliches Material

Hinweis:

Zusätzlich zu dem essenziell für den Test benötigten Universalmodul (Art.-Nr. MQUM 1) und den individuell zusammengestellten Probenpuffern (Art.-Nr. MQSBXX, je nach Typ), werden folgende Materialien benötigt:

- 96-Well Mikrotiterplatte
- Pipetten (2-20 µL, 20-200 µL) und Spitzen

Verwendungszweck

Das Milenia QuickLine Mouse Antibody Isotyping System, bestehend aus Universalmodul (Art.-Nr. MQUM 1) und Probenpuffer(n) (Art.-Nr. MQSBXX, je nach Typ), ermöglicht die schnelle und einfache Identifizierung von Maus-Ak-Isotypen, -Subtypen und leichten Ketten.

Diese Produkte sind nur für Forschungszwecke bestimmt, nicht für diagnostische Anwendungen.

Testprinzip

Bei der Herstellung monoklonaler Maus-Antikörper ist es wichtig, den Antikörper-Subtyp zu kennen. Hierdurch kann die am besten geeignete Reinigungsmethode für den spezifischen Isotyp ausgewählt werden und somit die höchste Antikörper-Ausbeute erreicht werden. Wenn für die Reklonierung kein Antigen verfügbar ist, kann mit Hilfe dieses Tests der Nachweis positiver Klone erleichtert werden und auf Monoklonalität hin untersucht werden.

Milenia QuickLine Mouse Antibody Isotyping ist ein Lateral Flow Immunoassay, der zur Bestimmung von monoklonalen Maus-Antikörper-Isotypen, -Subtypen und leichten Ketten entwickelt wurde. Der Test zeigt das Ergebnis innerhalb von 5 Minuten.

Der Immunoassay kann für Zellkulturüberstand und/oder gereinigte Antikörper verwendet werden (ca. 1-20 µg/mL).

Zunächst wird der isotypspezifische Probenpuffer (z. B. Anti-Maus-IgG1) in ein Well einer 96-Well-Mikrotiterplatte gegeben. Anschließend wird die Testprobe einer unbekanntes Antikörper-Subklasse hinzugefügt.

Wird ein Komplex zwischen Probenpuffer und der Testprobe gebildet, erscheint durch die Bindung an anti-Maus-Antikörpern auf dem Universalteststreifen eine rote Linie.

Testdurchführung

Wichtige Information:

Alle Reagenzien müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-28 °C) gebracht werden.

Bei einer zu hohen Antikörperkonzentration kann es zu einem falsch negativen Ergebnis kommen (high dose hook Effekt). Dies kann bei konzentrierten, gereinigten Antikörpern auftreten. Die Proben müssen dann mit 1 X PBS verdünnt werden, um in den Messbereich des Tests zu gelangen (1 – 20 µg/mL).

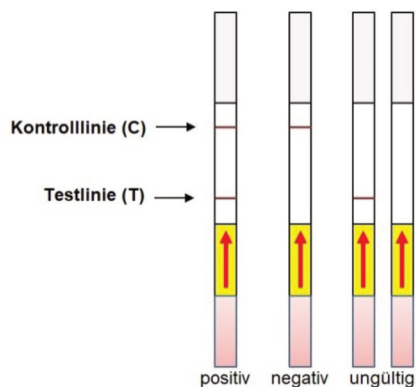
Testdurchführung:

1. **45 µL** des geeigneten **isotyp-spezifischen Probenpuffers** (MQSBXX) in ein Well einer 96-Well-Mikrotiterplatte pipettieren
2. **10 µL** der **Antikörperlösung** (ca. 1-20 µg/mL) zugeben und gut mischen
3. **Universalteststreifen** des Milenia QuickLine Mouse Antibody Isotyping Universalmoduls (MQUM 1) in jede verwendete Vertiefung stellen
4. **5 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren
5. **Visuelle Ablesung** der Ergebnisse sofort nach Ablauf der Inkubationszeit.

Bitte beachten!

Testlinien, die nach dieser Zeit entstehen, sind zu vernachlässigen.

Auswertung der Ergebnisse



Positiv:

Testlinie (T) und Kontrolllinie (C) sind sichtbar

Der Isotyp ist nachweisbar positiv

Achtung: Eine schwach gefärbte Testlinie ist als positiv zu werten

Negativ:

Nur die Kontrolllinie (C) ist sichtbar

Der Isotyp ist nicht nachweisbar (gültiges Negativergebnis)

Ungültig:

Nur Testlinie (T), oder keine Linie sichtbar

Die Auswertung der Teststreifen erfolgt visuell. Alle möglichen Ergebnis-Varianten sind in der obigen Abbildung dargestellt.

Die **Kontrollbande (C)** bestätigt die Funktionalität des Teststreifens.

Die **Testline (T)** gibt das Vorhandensein, oder die Abwesenheit des Ziel-Isotypen an.

Fehlerbehebung

Problem	Mögliche Ursache(n)	Empfehlung
Keine Kontrollbande sichtbar	a) Beschädigter Teststreifen	a) Test mit Ersatz-Teststreifen wiederholen
Falsch negatives Ergebnis	a) Konzentration des aufgereinigten Ak ist zu hoch b) Ak-Konzentration im Zellkulturüberstand ist zu gering	a) Ak in 1 X PBS verdünnen b) Höhere Ak-Konzentration einsetzen
Mehrere Testbanden entstehen	a) Inkubationszeit überschritten b) Konzentration des Ak ist zu hoch c) Mehr als ein Ak in der Probe vorhanden	a) Nicht über 5 Min inkubieren b) Ak in 1 X PBS verdünnen c) Zelllinie reklonieren

Ist auf dem Teststreifen keine Linie sichtbar, wenden Sie sich an den Kundendienst der Milenia Biotec GmbH.

Assay Sensitivität

Die Sensitivität ist abhängig von den Test-Bedingungen (gereinigter Antikörper/Zellkulturüberstand). Die Nachweisgrenze liegt zwischen 1 und 20 µg/mL.

Dokumentation der Ergebnisse

Zur Dokumentation direkt nach Ende der Laufzeit den unteren Teil des Teststreifens, oberhalb des gelben Bereichs, abschneiden und, falls gewünscht, die Teststreifen fotografieren.

Hinweis: Beim Trocknen verstärkt sich das Signal.

Kurzanleitung

1. 45 µL isotyp-spezifischer Probenpuffer
2. 10 µl Antikörper-Probe, mischen
3. 1 Teststreifen einstellen
4. 5 Min bei RT inkubieren und sofort ablesen

Für Fragen und Anregungen erreichen Sie uns unter:

Telefon: 0 641 – 94 88 83 – 0
Fax: 0 641 – 94 88 83 – 80
E-mail: info@milenia-biotec.de
Web: www.milenia-biotec.de

Date/ Datum	Revision	Cause of Revision/ Änderungsgrund
15.05.2018	MQSBXX / A / 2018-05-15	Creation of the instructions for use. Erstellung der Gebrauchsanweisung.
18.10.2022	MQSBXX / B / 2022-10-18	General revision of the instructions for use. Generelle Überarbeitung der Gebrauchsanweisung.



Milenia Biotec GmbH · Versailler Str. 1 · 35394 Gießen, Germany
Tel.: +49 641-948883-0 · Fax: +49 641-948883-80
E-mail: info@milenia-biotec.de · Web: www.milenia-biotec.de