

**Monoclonal Mouse
Anti-Human CD45R0**
Clone UCHL1

Code M0742

ENGLISH

Intended use	<p>For in vitro diagnostic use.</p> <p>Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, Clone UCHL1, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels CD45R0 in both normal and neoplastic cells (1, 2). Labeling of CD45R0 is a useful aid in the classification of lymphomas (1,2). 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 primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.</p>
Summary and explanation	<p>CD45 is a transmembrane glycoprotein expressed on most nucleated cells of haematopoietic origin. CD45, encoded by a single gene mapped to chromosome 1, has various isoforms based on differential splicing of exons 4, 5 and 6. On human leucocytes, five different isoforms of CD45, named ABC, AB, BC, B and 0, have been identified. These isoforms are recognized by CD45RA, CD45RB, CD45RC and CD45R0 antibodies. The Mr of the CD45R0 isoform is 180 000, and the gene encoding the CD45R0 protein contains none (hence the 0) of the differentially spliced exons 4, 5 and 6. All the CD45 isoforms share the same intracellular segment, which has been shown to have tyrosine phosphatase activity. Various leucocytes express characteristic CD45 isoforms, thus T cells express CD45 isoforms corresponding to their development and activation. B cells predominantly express the ABC isoform, and monocytes and dendritic cells predominantly express the B and 0 isoforms. Granulocytes principally express only the B and 0 isoforms (3).</p> <p>Refer to <i>Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> 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.</p>
Reagent provided	<p>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.</p> <p><u>Clone:</u> Clone UCHL1 (4). <u>Isotype:</u> IgG2a, kappa.</p> <p><u>Mouse IgG concentration:</u> see label on vial.</p> <p>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.</p>
Immunogen	IL-2 dependent T-cell line, CA1 (4).
Specificity	<p>The antibody was clustered as anti-CD45R0 at the Fourth (5) and Fifth (6) International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens.</p> <p>In Western blotting of lysate of peripheral blood mononuclear cells, the antibody was found to react specifically with a 180 kDa band corresponding to CD45R0. In leucocyte common antigen (LCA) transfected cell lines, expressing the ABC, the AB, the BC, the B or the 0 CD45 isoform only, the antibody reacted solely with the transfectant expressing CD45R0 (7).</p>
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> 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 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, Dako Technical Support.
Specimen preparation	<p><u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Bouin's and acidic formalin (pH < 3.1) are unsuitable (4). Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is recommended. Optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0, or 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. Pre-treatment of tissues with proteinase K was found destructive of the epitope. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.</p> <p><u>Frozen sections and cell preparations:</u> The antibody can be used for labeling acetone-fixed, frozen sections (1, 7), cell smears (1), and cytospins (7). The user must validate the staining procedure.</p>
Staining procedure	<p>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.</p> <p><u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, Code M0742, may be used at a dilution range of 1:50-1:100 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. The recommended negative control is Dako Mouse IgG2a, Code X0943, 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.</p> <p><u>Quality control:</u> Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens.</p> <p><u>Visualization:</u> Dako EnVision+HRP kits, e.g. Code K4005 are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.</p>
Staining interpretation	Cells labeled by the antibody generally display a staining confined to the cell membrane.

Performance characteristics	<p>Normal tissues: The antibody labels most thymocytes, a subpopulation of resting T cells within both the CD4 and CD8 subsets, and mature activated T cells. Additionally, granulocytes and monocytes are labeled, whereas normal B cells and NK cells are not labeled (4). In a study covering a large panel of normal tissues (1), the antibody labeled lymphocytes in the T-cell areas of normal tonsil, spleen, and normal and reactive lymph nodes. In the thymus 90% of cortical and about 50% of medullary thymocytes were labeled. In contrast, the large cortical thymic blasts were not labeled. Membrane labeling in mature myeloid cells and about 20% of macrophages was a constant finding. Diffuse, and rarely strong, cytoplasmic labeling was observed in glandular epithelia, squamous epithelium transitional epithelium, hepatocytes, syncytiotrophoblasts and all smooth muscle.</p> <p>Abnormal tissues: Of T-cell tumors, the antibody labeled 100% of cases of Mycosis fungoides (n=10), 83% of cases of peripheral T-cell lymphoma (n=25), 78% of cases of T acute lymphoblastic lymphoma (n=9) and 100% of malignant histiocytosis of the intestine (n=13). 2/2 cases of true histiocytic lymphoma were also labeled. No labeling was observed in a large range of B-cell lymphomas (n=62), but some large B-cell lymphomas of centroblastic and immunoblastic types showed diffuse cytoplasmic labeling. In Hodgkin's lymphoma (n=16) Reed-Sternberg cells showed cytoplasmic and negative membrane labeling. In 4/4 cases of granulocytic sarcoma, the antibody labeled mature myeloid cells only (1). With few exceptions, the antibody labeled tumor cells in 28 cases of cutaneous malignant T-cell lymphoma. In 85 biopsy specimens from inflammatory skin diseases, most reactive T cells were labeled with the antibody. Cells in cutaneous B-cell lymphomas were consistently not labeled, as were tumor cells in 125 cases of various non-lymphatic skin tumors (8).</p>
------------------------------------	---

FRANÇAIS

Utilisation prévue	<p>Pour une utilisation diagnostique in vitro.</p> <p>L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, Clone UCHL1, est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). Cet anticorps marque la protéine CD45R0 dans les cellules saines et néoplasiques (1, 2). Le marquage par l'anticorps CD45R0 facilite la classification des lymphomes (1,2). 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.</p>
Résumé et explication	<p>La CD45 est une glycoprotéine transmembranaire exprimée sur la plupart des cellules nucléées d'origine hématopoïétique. La CD45, codée par un seul gène localisé sur le chromosome 1, possède plusieurs isoformes selon l'épissage différentiel des exons 4, 5 et 6. Sur les leucocytes humains, cinq isoformes différentes de la CD45, appelées ABC, AB, BC, B et 0, ont été identifiées. Ces isoformes sont reconnues par les anticorps dirigés contre la CD45RA, la CD45RB, la CD45RC et la CD45R0. Le poids moléculaire de l'isoforme de CD45R0 est de 180 000 et le gène codant pour la protéine CD45R0 ne contient aucun des exons 4, 5 et 6 de l'épissage différentiel (d'où le 0). Toutes les isoformes de la CD45 ont en commun le même segment intracellulaire dont on a démontré qu'il présente une activité tyrosine phosphatase. Différents leucocytes expriment les isoformes caractéristiques de la CD45, notamment les lymphocytes T qui expriment les isoformes de la CD45 correspondant à leur développement et à leur activation. Les lymphocytes B expriment l'isoforme ABC et les monocytes et les cellules dendritiques expriment principalement les isoformes B et 0. Les granulocytes expriment principalement et uniquement les isoformes B et 0 (3).</p> <p>Consulter le document <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (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.</p>
Réactifs fournis	<p>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).</p> <p>Clone : Clone UCHL1 (4). Isotype : IgG2a, kappa.</p> <p>Concentration en IgG de souris : Voir l'étiquette sur le flacon.</p> <p>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.</p>
Immunogène	Lignée de lymphocytes T dépendants de l'IL-2, CA1 (4).
Spécificité	<p>L'anticorps a été classifié comme un anti-CD45R0 aux Fourth (5) and Fifth (6) International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Quatrième et Cinquième Conférences et Ateliers Internationaux sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains).</p> <p>Lors d'un Western blot de lysat de cellules mononucléées de sang périphérique, l'anticorps a réagi spécifiquement avec une bande de 180 kDa correspondant au CD45R0. Dans les lignées cellulaires transfectées par l'antigène leucocytaire commun (LCA), exprimant uniquement l'isoforme ABC, AB, BC, B ou 0 de la CD45, l'anticorps a réagi uniquement avec les cellules transfectées exprimant le CD45R0 (7).</p>
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pour utilisation diagnostique in vitro. 2. Pour utilisateurs professionnels. 3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosives. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations. 4. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées. 5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau. 6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.
Conservation	<p>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.</p>
Préparation des échantillons	<p>Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol. Le liquide de Bouin et le formol acide (pH < 3,1) ne sont pas adaptés (4). Le prétraitement des tissus déparaffinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est recommandé. Des résultats optimaux sont obtenus avec le produit Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, dans un tampon citrate à 10 mmol/L à pH 6,0 ou dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0. Le prétraitement des tissus par la protéinase K s'est révélé détruire l'épitope. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante.</p> <p>Coupes congelées et préparations cellulaires : L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes congelées, fixées à l'acétone (1, 7), des frottis cellulaires (1) et des cytopins (7). L'utilisateur doit valider la procédure de coloration.</p>
Procédure de coloration	<p>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.</p>

Dilution : Le Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, réf. M0742, peut être utilisé à une gamme de dilution allant de 1:50 à 1:100 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 dans le produit Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Mouse IgG2a, réf. X0943, 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 positif et négatif, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients.

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

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent généralement une coloration limitée à la membrane cellulaire.

Performances

Tissus sains : L'anticorps marque la plupart des thymocytes, une sous-population des lymphocytes T au repos à l'intérieur des sous-ensembles CD4 et CD8, et les lymphocytes T matures activés. De plus, les granulocytes et les monocytes sont marqués, alors que les lymphocytes B normaux et les cellules tueuses NK ne sont pas marqués (4). Dans une étude couvrant un large panel de tissus sains (1), l'anticorps a marqué les lymphocytes dans les zones à lymphocytes T de l'amygdale et de la rate normales, et des ganglions lymphatiques normaux et réactifs. Dans le thymus, 90% des thymocytes corticaux et environ 50% des thymocytes médullaires étaient marqués. À l'opposé, les grands blastes thymiques corticaux n'étaient pas marqués. La membrane des cellules myéloïdes matures et environ 20% des macrophages étaient marqués de façon constante. Un marquage cytoplasmique diffus, et rarement important, a été observé dans l'épithélium glandulaire, l'épithélium squameux, l'épithélium transitionnel, les hépatocytes, les syncytiotrophoblastes et tous les muscles lisses.

Tissus anormaux : Dans les tumeurs à lymphocytes T, l'anticorps a marqué 100% des cas de Mycosis fungoides (n = 10), 83% des cas de lymphome à lymphocytes T périphériques (n = 25), 78% des cas de lymphome lymphoblastique aigu à lymphocytes T (n = 9) et 100% des cas d'histiocytose maligne de l'intestin (n = 13). 2/2 cas de lymphome histiocyttaire vrai étaient également marqués. Aucun marquage n'a été observé pour un grand nombre de lymphomes à lymphocytes B (n = 62), mais quelques lymphomes à grands lymphocytes B de type centroblastique et immunoblastique ont révélé un marquage cytoplasmique diffus. Dans le lymphome de Hodgkin (n = 16), les cellules de Reed-Sternberg ont présenté un marquage cytoplasmique et un marquage membranaire négatif. Dans 4/4 cas de sarcome granulocyttaire, l'anticorps a marqué uniquement les cellules myéloïdes matures (1). À quelques exceptions près, l'anticorps a marqué les cellules tumorales de 28 cas de lymphome malin cutané à lymphocytes T. Dans 85 échantillons issus d'une biopsie de maladies inflammatoires de la peau, la plupart des lymphocytes T réactifs étaient marqués par l'anticorps. Les cellules des lymphomes cutanés à lymphocytes B étaient invariablement non marquées, de même que les cellules tumorales dans 125 cas de diverses tumeurs non lymphatiques de la peau (8).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, Clone UCHL1, ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Der Antikörper markiert CD45R0 sowohl in normalen als auch in neoplastischen Zellen (1, 2). Die Markierung von CD45R0 ist ein wertvolles Hilfsmittel zur Klassifizierung von Lymphomen (1, 2). 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.

Zusammenfassung und Erklärung

CD45 ist ein Transmembran-Glykoprotein, das auf den meisten nukleierten Zellen hämatopoetischen Ursprungs exprimiert wird. CD45, das von einem einzigen, auf Chromosom 1 befindlichen Gen kodiert wird, besitzt verschiedene Isoformen, die durch alternatives Spleißen der Exone 4, 5 und 6 entstehen. Auf menschlichen Leukozyten wurden fünf verschiedene Isoformen von CD45 namens ABC, AB, BC, B und 0 identifiziert. Diese Isoformen werden von Antikörpern gegen CD45RA, CD45RB, CD45RC und CD45R0 nachgewiesen. Das Mr der CD45R0-Isoform beträgt 180 000, und das Gen, das das Protein CD45R0 kodiert, enthält keine (daher die 0) der Differential-Splicing-Exone 4, 5 und 6. Allen CD45-Isoformen gemeinsam ist der intrazelluläre Abschnitt, der nachweislich eine Tyrosinphosphatase-Aktivität aufweist. Verschiedene Leukozyten exprimieren charakteristische CD45-Isoformen, weswegen T-Zellen CD45-Isoformen exprimieren, die ihrer Entwicklung und Aktivierung entsprechen. B-Zellen exprimieren vorwiegend die ABC-Isoform und Monozyten und dendritische Retikulumzellen exprimieren vorwiegend die B- und 0-Isoformen. Granulozyten exprimieren prinzipiell nur die B- und 0-Isoformen (3).

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

Geliefertes Reagenz

Monoklonale Mausantikörper in flüssiger Form als gegen 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2 und 15 mmol/L Na₃ dialysierter Zellkulturüberstand.

Klon: Clone UCHL1 (4). **Isotyp**: IgG2a, 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

IL-2-abhängige T-Zell-Linie, CA1 (4).

Spezifität

Der Antikörper wurde bei den Fourth (5) und Fifth (6) International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (4. und 5. Internationale Workshops und Konferenzen über menschliche Leukozyten differenzierende Antigene) als Anti-CD45R0 geclustert.

Beim Western-Blotting von Lysat mononuklearer Zellen des peripheren Bluts stellte sich heraus, dass der Antikörper spezifisch mit einer 180 kDa Bande reagierte, die CD45R0 entspricht. In mit Leucocyte Common Antigen (LCA) transfizierten Zelllinien, die nur das CD45-Isoform ABC, AB, BC, B oder 0 exprimierten, reagierte der Antikörper ausschließlich mit dem CD45R0 exprimierenden Transfektanten (7).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (Na₃), 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.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2-8 °C lagern. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig

mit den Patientengewebeproben mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufnehmen.

Gewebevorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, formalinfixierten Gewebeschnitten verwendet werden. Bouin-Lösung und säurebildendes Formalin (pH < 3.1) sind ungeeignet (4). Die Vorbehandlung des entparaffinierten Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung wird empfohlen. Optimale Resultate werden mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6.0, oder 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0, erzielt. Durch die Vorbehandlung des Gewebes durch Proteinase K wurde das Epitop zerstört. Während der Gewebevorbereitung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und Zellpräparate: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von azetonfixierten Gefrierschnitten (1, 7), Zellausstrichen (1) und Cytospins (7). Das Färbeverfahren muss vom Anwender validiert werden.

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 CD45R0, Code-Nr. M0742, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von menschlichem Mandelgewebe bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten in Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:50 und 1:100 verwendet werden. Als Negativkontrolle wird Dako Mouse IgG2a, Code-Nr. X0943 empfohlen, das auf dieselbe Konzentration von 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 Negativkontrollreagenz 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.

Auswertung der Färbung

Vom Antikörper markierte Zellen weisen in der Regel eine auf die Zellmembrane beschränkte Färbung auf.

Leistungseigenschaften









Normale Gewebe: Der Antikörper markiert die meisten Thymozyten, eine Subpopulation ruhender T-Zellen in den Untergruppen CD4 und CD8 sowie reife aktivierte T-Zellen. Zusätzlich werden Granulozyten und Monozyten markiert, während normale B-Zellen und NK-Zellen nicht markiert werden (4). Bei einer Studie mit einem großen Panel normaler Gewebe (1) markierte der Antikörper Lymphozyten in den T-Zell-Bereichen der meisten Mandel- und Milzgewebe sowie normalen und reaktiven Lymphknoten. Im Thymus wurden 90% der Rinden- und ca. 50% der medullären Thymozyten markiert. Dagegen wurden die großen kortikalen Thymusblasten nicht markiert. Es wurde permanent eine Membranmarkierung in reifen Myeloidzellen und ca. 20% der Makrophagen festgestellt. Eine diffuse und selten auch starke zytoplasmatische Markierung wurde in Drüsenepithelen, Plattenepithel-Übergangsepithel, Hepatozyten, Synzytiotrophoblasten und allen Zellen der glatten Muskulatur beobachtet.


Anormale Gewebe: Von den T-Zell-Tumoren markierte der Antikörper 100% der Fälle von Mycosis fungoides (n=10), 83% der Fälle von peripheren T-Zell-Lymphomen (n=25), 78% der Fälle von T-akuten Lymphoblasten-Lymphomen (n=9) und 100% der malignen Histiocyten des Darms (n=13). 2 von 2 Fällen echter histiozytischer Lymphome wurden ebenfalls markiert. Keine Markierung wurde bei einer großen Zahl von B-Zell-Lymphomen (n=62) beobachtet, aber einige große B-Zell-Lymphome des zentroblastischen und immunoblastischen Typs wiesen eine diffuse zytoplasmatische Markierung auf. Bei Hodgkin-Lymphomen (n=16) wiesen Reed-Sternberg-Zellen eine zytoplasmatische und negative Membranmarkierung auf. Bei 4 von 4 Fällen von Chlorosarkomen markierte der Antikörper nur reife myeloische Zellen (1). Mit wenigen Ausnahmen markierte der Antikörper in 28 Fällen von malignen T-Zell-Lymphomen der Haut Tumorzellen. In 85 Biopsieproben von entzündlichen Hauterkrankungen hat der Antikörper die meisten reaktiven T-Zellen markiert. Zellen in B-Zell-Lymphomen der Haut wurden konstant nicht markiert, wie auch Tumorzellen in 125 Fällen von verschiedenen nicht-lymphatischen Hauttumoren (8).

References/ Références/ Literatur

- Norton AJ, Ramsay AD, Smith SH, Beverley PCL, Isaacson PG. Monoclonal antibody (UCHL1) that recognises normal and neoplastic T cells in routinely fixed tissues. J Clin Pathol 1986;39:399-405.
- Davey FR, Elghetany MT, Kurec AS. Immunophenotyping of hematologic neoplasms in paraffin-embedded tissue sections. Am J Clin Pathol 1990;93. Suppl 1:S17-S26.
- Sewell WA, Cooley MA, Hegen M. NL6. CD45 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. 499-502.
- Smith SH, Brown MH, Rowe D, Callard RE, Beverley PCL. Functional subsets of human helper-inducer cells defined by a new monoclonal antibody, UCHL1. Immunology 1986;58:63-70.
- Schmidt RE. Non-lineage/natural killer section report: new and previously defined clusters. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, et al., editors. Leukocyte typing IV. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 4th International Workshop and Conference; 1989 Feb 21-25; Vienna, Austria. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1989. p. 517-42.
- Morimoto C. T18. CD45 cluster report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, et al., editors. Leukocyte 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. 386-9.
- Poppema S, Lai R, Visser L. Monoclonal Antibody OPD4 is reactive with CD45R0, but differs from UCHL1 by the absence of monocyte reactivity. Am J Pathol 1991;139:725-9.
- Sterry W, Hauschild A. Use of monoclonal antibodies (UCHL1, Ki-B3) against T and B cell antigens in routine paraffin-embedded skin biopsy specimens. J Am Acad Dermatol 1989;21:98-107.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

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

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