

Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0
Clone UCHL1
Code No./ Code/ Code-Nr. M 0742
Edition/ Ausgabe 20.01.03

ENGLISH	
Intended use	For in vitro diagnostic use. Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, Clone UCHL1, is intended for use in immunocytochemistry. The antibody labels CD45R0 in both normal and neoplastic cells, and is a useful tool for identifying T-cell lymphomas, and for the differentiation of low-grade B-cell from T-cell lymphomas (1, 2). Differential identification is aided by the results from a panel of antibodies. Interpretation must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.
Introduction	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 corresponding to 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).
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> Clone UCHL1 (4). <u>Isotype:</u> IgG2a, kappa. <u>Mouse IgG concentration:</u> see label on vial.
Immunogen	IL-2 dependent T-cell line, CA1 (4).
Specificity	The antibody was clustered as anti-CD45R0 at the Fourth (5) and Fifth (6) International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens. 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).
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.
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 our Technical Services.
Specimen preparation	<u>Paraffin sections:</u> The antibody can be used for labelling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin. Bouin's and acidic formalin (pH < 3.1) are unsuitable (4). Pre-treatment of tissues with heat-induced epitope retrieval is recommended. Optimal results are obtained with DakoCytomation Target Retrieval Solution, code No. S 1700, DakoCytomation Target Retrieval Solution, High pH, code No. S 3308, 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 immunocytochemical staining procedure. <u>Frozen sections and cell preparations:</u> The antibody can be used for labelling acetone-fixed, frozen sections (1, 7), cell smears (1), and cytospins (7).
Staining procedure	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, code No. M 0742, 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 DakoCytomation Target Retrieval solution, code No. S 1700, pH 6.0, 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 DakoCytomation Mouse IgG2a, code No. X 0943, 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 DakoCytomation Antibody Diluent, code No. S 0809. Positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimen. <u>Visualization:</u> DAKO LSAB™+/HRP kit, code No. K 0679, and DAKO EnVision™+/HRP kits, code Nos. K 4004 and K 4006, are recommended. For frozen sections and cell preparations, the DakoCytomation 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. <u>Automation:</u> The antibody is well suited for immunocytochemical staining using automated platforms, such as the DakoCytomation Autostainer.
Performance characteristics	Cells labelled by the antibody generally display a staining confined to the cell membrane. <u>Normal tissues:</u> 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 labelled, whereas normal B cells and NK cells are negative (4). In a study covering a large panel of normal tissues (1), the antibody labelled 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 labelled. In contrast, the large cortical thymic blasts were negative. Membrane labelling in mature myeloid cells and about 20% of macrophages was a constant finding. Diffuse, and rarely
(102420-001)	M 0742/EFG/CE/20.01.03 p. 1/4

strong, cytoplasmic labelling was observed in glandular epithelia, squamous epithelium transitional epithelium, hepatocytes, syncytiotrophoblasts and all smooth muscle.

Abnormal tissues: Of T-cell tumours, the antibody labelled 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 positive. No labelling 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 labelling. In Hodgkin's lymphoma (n=16) Reed-Stenberg cells showed positive cytoplasmic and negative membrane labelling. In 4/4 cases of granulocytic sarcoma, the antibody labelled mature myeloid cells only (1). With few exceptions, the antibody labelled tumour cells in 28 cases of cutaneous malignant T-cell lymphoma. In 85 biopsy specimens from inflammatory skin diseases, most reactive T cells were positive with the antibody. Cells in cutaneous B-cell lymphomas were consistently negative, as were tumour cells in 125 cases of various non-lymphatic skin tumours (8).

FRANÇAIS	
Intérêt	Pour diagnostic <i>in vitro</i> . Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, Clone UCHL1, est destiné pour un usage en immunocytochimie. L'anticorps marque le CD45R0 dans les cellules normales ou néoplasiques; il sert à l'identification des lymphomes à lymphocytes-T, et pour la différenciation entre les lymphomes de grade inférieur à lymphocytes-B de ceux à lymphocytes-T (1,2). L'identification différentielle s'appuie sur les résultats obtenus à l'aide d'un panel d'anticorps. L'interprétation des résultats doit être entreprise dans le contexte de l'histoire clinique du patient et des autres examens diagnostics par un professionnel certifié.
Introduction	CD45 est une glycoprotéine transmembranaire exprimée dans la plupart des cellules nucléées d'origine hématopoïétique. CD45, encodée par un gène simple cartographié au chromosome 1, a plusieurs isoformes selon l'épissage différentiel des exons 4, 5 et 6. Sur les leucocytes humains, cinq différentes isoformes de CD45, intitulés ABC, AB, BC, B et 0, ont été identifiées. Ces isoformes sont dépitées par les anticorps CD45RA, CD45RB, CD45RC et CD45R0. La RM de l'isoforme CD45R0 est 180 000 et le gène qui correspond à la protéine CD45R0 ne contient aucun (d'où le 0 de R0) des exons 4,5 ou 6 subissant un épissage différentiel. Toutes les isoformes de CD45 ont en commun un segment intracellulaire pour lequel on a mis en évidence une activité tyrosine phosphatase. Les leucocytes expriment des isoformes de CD45 qui leur sont propres: ainsi les lymphocytes-T expriment des isoformes de CD45 correspondant à leur stade de développement et leur niveau d'activation. Les lymphocytes B expriment plus particulièrement l'isoforme ABC, les monocytes et les cellules dendritiques expriment principalement les isoformes B et 0. Les granulocytes expriment seulement les isoformes B et 0 (3).
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> Clone UCHL1 (4). <u>Isotype:</u> IgG2a, kappa. <u>Concentration IgG de Souris:</u> Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.
Immunogène	Lignée cellulaire T IL-2 dépendante, CA1 (4).
Spécificité	L'anticorps a été classé anti-CD45R0 au cours des Fourth (5) and Fifth (6) International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens. En transfert de Western sur des lysats de cellules mononucléaires du sang périphérique, l'anticorps montre une réaction de façon spécifique à une bande de 180 kDa qui correspond au CD45R0. Dans les lignées cellulaires transfectées par l'antigène courant des leucocytes (LCA), qui expriment uniquement l'isoforme CD45 AB, BC, B ou 0, l'anticorps ne réagit qu'avec le transfectant qui exprime le CD45R0 (7).
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.
Stockage	Stocker entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption sur le flacon. Si les réactifs ont été conservés dans d'autres conditions que celles spécifiées, ces 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 nos Services Techniques.
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 liquide de Bouin et le formol acide (pH < 3,1) ne conviennent pas. Le prétraitement des tissus par desquantage des épitopes par la chaleur est requis. Un résultat optimal est obtenu en utilisant DakoCytomation Target Retrieval Solution, code S1700, ou DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH élevé, code S3308, ou 10 mmol/l de solution tampon citrate, pH 6,0, ou 10 mmol/l Tampon Tris, 1 mmol/l EDTA, pH 9,0. Le prétraitement des tissus à la Protéinase K a entraîné la destruction de l'épitope. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher pendant le traitement ou la procédure d'immunomarquage immunocytochimique suivante. <u>Coupes congelées et préparations cellulaires:</u> L'anticorps peut être utilisé pour le marquage de coupes de tissus congelées, fixées à l'acétone, (1,7), de frottis cellulaires (1) et de cytospines (7).
Procédure d'immunomarquage	<u>Dilution:</u> Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, code M 0742, peut être dilué entre 1:50 et 1:100 pour une application 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 DakoCytomation Target Retrieval solution, code S 1700, pH 6.0, et pendant 30 minutes d'incubation à température ambiante de 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 DakoCytomation Mouse IgG2a, code X 0943, dilué à la même concentration d'IgG de souris que 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 DakoCytomation Antibody Diluent, code S 0809. Les contrôles positifs et négatifs doivent être opérés simultanément avec l'échantillon du patient. <u>Révélation:</u> DAKO LSAB™+/HRP kit, code K 0679, et DAKO EnVision™+/HRP kits, codes K 4004 et K 4006, sont requis. Pour les coupes en congélation et préparations cellulaires, DakoCytomation APAAP kit, code K 0670, est une alternative valable si le marquage endogène peroxydasique est à craindre. Suivre la procédure incluse avec le kit de révélation choisi. <u>Automatisation:</u> L'anticorps est bien approprié au marquage immunocytochimique sur plateformes automatiques comme le DakoCytomation Autostainer.
(102420-001)	M 0742/EFG/CE/20.01.03 p. 2/4

Leistungsmerkmale

Performances

Les cellules marquées par l’anticorps montrent un marquage généralement confiné à la membrane cellulaire.

Tissus normaux: L’anticorps marque la plupart des thymocytes, une sous population des lymphocytes-T au repos appartenant aux sous-ensembles CD4 et CD8, et des lymphocytes-T activés et matures. De plus, les granulocytes et les monocytes sont marqués alors que les lymphocytes-B normaux et les lymphocytes-NK sont négatifs (4). Dans une étude couvrant une gamme étendue de tissus normaux (1), l’anticorps a marqué les lymphocytes dans les zones à lymphocytes-T d’amygdale normale, de rate et de nodules lymphatiques normaux et réactifs. Dans le thymus, 90% des thymocytes corticaux et 50% des thymocytes médullaires ont été marqués. En revanche, les grands blastes corticaux du thymus sont restés négatifs. Le marquage membranaire des cellules myéloïdes matures et de 20% des macrophages a été observé systématiquement. Le marquage diffus, et rarement prononcé du cytoplasme, a été observé dans l’épithélia glandulaire, l’épithélium squameux, l’épithélium transitionnel, les hépatoocytes, les syncytiotrophoblastes et tout muscle lisse.

Tissus anormaux: Sur les tumeurs à lymphocytes-T, l’anticorps a marqué 100% des cas de *Mycosis Fongoïde* (n=10), 83% des cas de lymphomes à lymphocytes-T périphériques (n=25), 78% des cas de lymphomes lymphoblastiques aigus T (n=9) et 100% d’histiocytoses malines de l’intestin (n=13). 2/2 cas de véritables lymphomes histiocytiques ont été positifs. Aucun marquage n’a été observé dans une majorité des lymphomes à lymphocytes-B (n=62), mais certains lymphomes à grands lymphocytes-B, de type centroblastique ou immunoblastique, ont présenté un marquage cytoplasmique diffus. Dans le lymphome de Hodgkin (n=16) les cellules de Reed-Sternberg ont présenté un marquage cytoplasmique positif et un marquage membranaire négatif. Dans 4/4 cas de sarcome polynucléaire, l’anticorps a marqué uniquement les cellules myéloïdes matures (1). A quelques exceptions près, l’anticorps a marqué des cellules tumorales dans 28 cas de lymphome cutané à lymphocytes-T malins. Dans 85 spécimens provenant de maladies inflammatoires de la peau, la plupart des lymphocytes-T réactifs étaient positifs à l’anticorps. Les cellules de lymphomes cutanés à lymphocytes-B étaient toujours négatives, de même que les cellules tumorales de 125 cas de tumeurs cutanées non-lymphatique (8).

DEUTSCH	
Zweckbestimmung	Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen. <p>Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, Clone UCHL1, ist für den immunzytochemischen Gebrauch bestimmt. Der Antikörper markiert CD45R0 sowohl in normalen als auch in neoplastischen Zellen und ist nützlich für die Identifikation von T-Zell-Lymphomen und für die Abgrenzung niedrigmaligner B-Zell- von T-Zell-Lymphomen dar (1, 2). Die differentielle Identifizierung wird durch die mit einem Antikörper-Panel erhaltenen Resultate unterstützt. Die Interpretation muss unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren durch einen erfahrenen Pathologen erfolgen.</p>
Einleitung	CD45 ist ein Transmembran-Glykoprotein, das auf den meisten kernhaltigen Zellen hämatopoetischen Ursprungs exprimiert wird. CD45, wird von einem einzigen, am Chromosom 1 kartierten Gen kodiert und erscheint in verschiedenen Isoformen, welche durch differentielles Spleißen der Exone 4, 5 und 6 bedingt ist. Fünf verschiedene Isoformen des CD45, genannt ABC, AB, BC, B und 0, wurden auf humanen Leukozyten identifiziert. Diese Isoformen werden von Antikörpern gegen CD45RA, CD45RB, CD45RC und CD45R0 erkannt. Die relative Molekülmasse des CD45R0-Isoformen beträgt 180 000, und das dem CD45R0-Protein entsprechende Gen enthält keines (daher die Bezeichnung „0“) der differentiell gespleißten Exone 4, 5 und 6. Allen CD45-Isoformen ist das gleiche intrazelluläre Segment mit nachgewiesener Tyrosinphosphatase-Aktivität gemeinsam. Verschiedene Leukozyten exprimieren charakteristische CD45-Isoformen: T-Zellen exprimieren beispielsweise CD45-Isoformen, die ihrer Entwicklung und Aktivierung entsprechen. B-Zellen exprimieren vorwiegend die ABC-Isoform, und Monozyten und dendritische Zellen exprimieren vorwiegend die B- und 0-Isoformen. Granulozyten exprimieren prinzipiell nur die B- und 0-Isoformen (3).
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 NaN ₃ . <p>Klon: Klon UCHL1 (4). Iso^{typ}: IgG2a, Kappa. Maus-IgG-Konzentration: Siehe Produktetikett.</p>
Immunogen	IL-2 abhängige T-Zelllinie, CA1 (4).
Spezifität	Der Antikörper wurde im Kontext der „Fourth (5) and Fifth (6) International Workshops and Conferenes on Human Leucocyte Differentiation Antigens“ als anti-CD45R0 aufgenommen. <p>Im Western-Blot des Lysats mononukleärer Zellen aus peripherem Blut reagierte der Antikörper spezifisch mit einer 180 kDa-Bande, die CD45R0 entspricht. Bei LCA (Leucocyte Common Antigen) transfizierten Zelllinien, welche ausschließlich die CD45-Isoform ABC, AB, BC, B oder 0 exprimieren, reagierte der Antikörper lediglich mit dem CD45R0 exprimierenden Transfektionsprodukt.</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>
Lagerung	Bei 2 – 8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Fläschchen angegebenen Verfallsdatum verwenden. Falls die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt werden, 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. Bouin-Lösung und saures Formalin (pH-Wert < 3,1) sind ungeeignet (4). Es wird eine Vorbehandlung der Gewebe mit hitzeinduzierter Epitopdemaskierung empfohlen. Optimale Resultate werden erzielt mit DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 6,1, Code-Nr. S 1700, DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 9,9, Code-Nr. S 3308, 10 mmol/L Citratpuffer, pH 6,0, oder 10 mmol/L Trispuffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9,0. Dagegen wurde festgestellt, dass die Gewebevorbereitung mit Proteinase K zur Zerstörung des Epitops führt. Während der Gewebevorbehandlung oder während der sich anschließenden immunzytochemischen Färbeprozedur dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen. <p>Gefrierschnitte und zytologische Präparate: Der Antikörper kann für die Markierung azetonfixierter Schnitte, Gefrierschnitte (1, 7), Zellabstriche (1) und fixierter Zytozentrifugenpräparate (7) verwendet werden</p>
Färbeprozedur	Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human CD45R0, Code-Nr. M 0742, kann bei einem Verdünnungsbereich von 1:50-1:100 eingesetzt werden, wenn es für formalinfixierte, paraffineingebettete Schnitte der menschlichen Tonsille genutzt wird und wenn 20 Minuten lang die hitzeinduzierte Epitopdemaskierung mit DakoCytomation Target Retrieval Solution, pH 6,1, Code-Nr. S 1700, 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

(102420-001)	M 0742/EFG/CE/20.01.03 p. 3/4
DakoCytomation 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	

DakoCytomation Mouse IgG2a, Code-Nr. X 0943, 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 DakoCytomation Antibody Diluent, Code-Nr. S 0809, vorzunehmen. Es sollten die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden.

Visualisierung: Folgende Kits werden empfohlen: DAKO LSAB™+/HRP-Kit, Code-Nr. K 0679 und DAKO EnVision™+/HRP-Kits, Code-Nr. K 4004 und K 4006. Falls bei Gefrierschnitten und Zellpräparaten Probleme mit endogener Peroxidasefärbung auftreten, bietet der DakoCytomation APAAP Kit, Code-Nr. K 0670, eine gute Alternative. Es ist dem Verfahren zu folgen, das in den Anleitungen des genutzten Kits für die Visualisierung erläutert wird.













Automatisierung: Der Antikörper ist gut für das immunzytochemische Färben unter Nutzung automatisierter Plattformen wie beispielsweise des „Autostainer“ von DakoCytomation geeignet.

Leistungseigenschaften

Spezifisch durch den Antikörper markierte Zellen zeigen generell eine auf die Zellmembran beschränkte Färbung.

Normalgewebe: Der Antikörper markiert die meisten Thymozyten, in den beiden CD4- und CD8-Untergruppen eine Subpopulation ruhender T-Zellen und reife aktivierte T-Zellen. Zusätzlich werden Granulozyten und Monozyten markiert, während normale B-Zellen und NK-Zellen negativ reagieren (4). In einer Studie, in der ein großer Panel normaler Gewebe untersucht wurden (1), markierte der Antikörper Lymphozyten in den T-Zell-Bereichen normalen Mandel- und Milzgewebes und normaler und reaktiver Lymphknoten. Im Thymus wurden 90% der kortikalen und circa 50% der medullären Thymozyten markiert. Im Gegensatz dazu testeten die großen kortikalen Thymusblasten negativ. Es wurde eine konstante Membranmarkierung bei reifen myeloiden Zellen und ungefähr 20% der Makrophagen festgestellt. Eine diffuse und nur selten starke zytoplasmatische Markierung wurde bei Drüsenepithel, Plattenepithel, Übergangsepithel, Hepatozyten, Synzytiotrophoblasten und allen glatten Muskeln nachgewiesen.

Anomales Gewebe: Bei T-Zell-Tumoren markierte der Antikörper 100% der Fälle von *Mycosis fungoides* (n=10), 83% der Fälle peripherer T-Zell-Lymphome (n=25), 78% der Fälle T-akuter lymphoblastischer Lymphome (n=9) und 100% der Fälle maligner Histiozytose des Darms (n=13). 2/2 Fälle tatsächlicher histiozytischer Lymphome testeten ebenfalls positiv. Bei einer großen Palette von B-Zell-Lymphomen (n=62) wurde keine Markierung beobachtet. Einige große B-Zell-Lymphome zentroblastischer und immunoblastischer Art wiesen jedoch eine diffuse zytoplasmatische Färbung auf. Beim Hodgkin-Lymphom (n=16) zeigten Reed-Sternberg-Zellen eine positive zytoplasmatische und eine negative Membran-Markierung. In 4/4 Fällen von granulozytischen Chlorosarkomen markierte der Antikörper ausschließlich reife myeloide Zellen (1). Mit wenigen Ausnahmen markierte der Antikörper Tumorzellen in 28 Fällen kutaner maligner T-Zell-Lymphome. Bei 85 Biopsieproben entzündlicher Hauterkrankungen testeten die meisten reaktiven T-Zellen positiv mit dem Antikörper. Zellen aus kutanen B-Zell-Lymphomen sowie Tumorzellen in 125 Fällen verschiedener nicht lymphatischer Hauttumore testeten durchgehend negativ (8).

References/ Références/ Literatur												
<ol style="list-style-type: none">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/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole												
<table> <tbody><tr> <td>REF</td> <td>Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer</td> <td> <p>Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich</p></td> <td> <p>Manufacturer Fabricant Hersteller</p></td></tr> <tr> <td>IVD</td> <td>In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum</td> <td>LOT</td> <td>Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung</td></tr> <tr> <td></td> <td>Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten</td> <td></td> <td>Use by Utiliser jusque Verwendbar bis</td></tr> </tbody></table>	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 jusque Verwendbar bis
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 jusque Verwendbar bis									

(102420-001)	M 0742/EFG/CE/20.01.03 p. 4/4
DakoCytomation 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	