

Monoclonal Mouse Anti-Human CD25, Interleukin-2 Receptor, Clone ACT-1

Code No./ Code/ Code-Nr. **F 0801 FITC-Conjugated**

Code No./ Code/ Code-Nr. **R 0811 RPE-Conjugated**

ENGLISH

Intended use For in vitro diagnostic use.
F 0801 and R 0811 are intended for use in flow cytometry. Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Synonyms for antigen Interleukin-2 receptor (IL-2R), interleukin-2 receptor α chain, Tac antigen (1, 2, 3).

Introduction The interleukin-2 receptors consist of three polypeptides (α , β , γ), which in different combinations bind IL-2 (1). The 55 kDa α chain is called CD25 (3). The α chain alone, the $\beta\gamma$ heterodimer, and the $\alpha\beta\gamma$ heterotrimer form the low-, intermediate- and high affinity IL-2R, respectively. The intermediate- and high affinity IL-2R play a role in intracellular signal transduction (1).

CD25 is strongly expressed on the surface of T cells activated by antigens, mitogens (phytohaemagglutinin A (PHA), concanavalin A (Con-A), pokeweed mitogen (PWM)), *Staphylococcus aureus*, viruses (HTLV-I, HTLV-II, Epstein-Barr virus) (4, 5), and is also expressed on B cells stimulated with anti-IgM antibody, and on monocytes/macrophages stimulated with lipopolysaccharide (6). In normal peripheral blood a variable staining of lymphoid cells (about 3-25%) is observed.

Reagent provided The Anti-CD25 conjugates, F 0801 and R 0811, have been produced from a purified monoclonal mouse antibody. The conjugates are provided in liquid form in buffer containing 1% bovine serum albumin (BSA) and 15 mmol/L NaN_3 , pH 7.2. Each vial contains 100 tests (10 μL of conjugate for up to 10^6 PHA-stimulated lymphocytes from normal peripheral blood).

Isotype: IgG1, kappa. Conjugate concentration mg/L: see label on vial.

Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.
F 0801	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927
R 0811	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928

Immunogen Phytohemagglutinin-stimulated peripheral blood lymphocytes.

Specificity The specificity of Anti-CD25, ACT-1, is identical to that of CD25-clustered antibodies as indicated by analysis of immunoprecipitates and the immunocytochemical labelling pattern (7, 8).

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 in the dark 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.

Staining procedure

1. Collect venous blood into a test tube containing an anticoagulant.
2. Isolate mononuclear cells by centrifugation on a separation medium. Alternatively, lyse the red cells after step 6.
3. Wash the mononuclear cells twice with RPMI 1640 or PBS, pH 7.2-7.4.
4. Mix 100 μL cell suspension with 10 μL fluorochrome-conjugated Anti-CD25.
5. Use a non-reactive monoclonal antibody of the same isotype, and conjugated with the same fluorochrome as a negative control (see table).
6. Incubate in the dark at 4 °C for 30 minutes.
7. Wash twice with PBS containing 2% BSA. Resuspend the cells in an appropriate fluid for flow cytometry, e.g. 0.3 mL 1% paraformaldehyde (fixative) in 0.01 mol/L PBS, pH 7.4.
8. Analyse on a flow cytometer.

It is recommended to include a suitable positive and negative control sample with each run for reagent and preparation control. Note that fluorochrome conjugates are light sensitive, and samples should be protected from light during the staining procedure and until the analysis.

Intérêt Pour diagnostic in vitro.
F 0801 et R 0811 sont destinés pour un usage en cytométrie en flux. L'interprétation des résultats doit être entreprise par un professionnel certifié dans le contexte de l'histoire clinique du patient et des autres examens diagnostics.

Synonymes de l'antigène Récepteur de l'Interleukine-2 (IL-2R), chaîne α du récepteur de l'Interleukine-2, antigène Tac (1, 2, 3).

Introduction Les récepteurs de l'interleukine-2 sont constitués de trois polypeptides (α , β , γ), qui se lient à l'IL-2 selon diverses combinaisons. La chaîne α de 55 kDa est appelée CD25 (3). La chaîne α seule, l'hétérodimère β , γ et l'hétérotrimère $\alpha\beta\gamma$ forment, respectivement un IL-2R de faible, intermédiaire et haute affinité. Les IL-2R d'affinité faible et intermédiaire jouent un rôle dans la transduction du signal intracellulaire (1).

CD25 est fortement exprimé à la surface des cellules T activées par les antigènes, les mitogènes (phytohémmagglutinine A (PHA), concanavoline A (Con-A), mitogène de la phytoleque (PWM)), *Staphylococcus aureus*, virus (HTLV-I, HTLV-II, virus d'Epstein-Barr) (4, 5), il est également exprimé sur les cellules B stimulées par un anticorps IgM, ainsi que sur les monocytes/macrophages stimulés par des lipopolysaccharides (6). Dans le sang périphérique normal, un marquage variable des cellules lymphoïdes (de 3 à 25% environ) est observé.

Réactif fourni Les conjugués Anti-CD25, F 0801 et R 0811, ont été obtenus à partir d'un anticorps monoclonal de souris purifié. Les conjugués sont fournis à l'état liquide dans un tampon contenant 1% d'albumine sérique bovine (BSA) et 15 mmol/L de NaN_3 , à 7,2 de pH. Chaque flacon permet de réaliser 100 analyses (10 μL de conjugué pouvant traiter jusqu'à 10^6 lymphocytes stimulés par la PHA provenant de sang périphérique normal).

Isotype: IgG1, kappa. **Concentration du conjugué mg/L:** Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.

Code de l'anticorps	Fluor	Code du Contrôle Négatif
F 0801	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927
R 0811	RPE (R-Phycoérythrine)	X 0928

Immunogène Lymphocytes du sang périphérique stimulés par la phytohémmagglutinine.

Spécificité La spécificité de l'ACT-1, anti-CD25, est identique à celle des anticorps du cluster de différenciation CD25 comme l'indique l'analyse des immunoprécipités et le modèle de marquage immunocytochimique (7,8).

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.

Conservation Conserver à l'obscurité entre 2° et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption mentionnée 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.

Procédure d'immunomarquage

1. Prélever le sang veineux dans un tube à essais contenant un anticoagulant.
2. Isoler les cellules mononucléaires par centrifugation dans un milieu de séparation. Sinon, lyser les globules rouges après l'étape 6.
3. Laver les cellules mononucléaires deux fois avec du RPMI 1640 ou du PBS, à 7,2-7,4 de pH.
4. Mélanger 100 μL de la suspension de cellules avec 10 μL de conjugué fluorochrome Anti-CD25.
5. Utiliser un anticorps monoclonal non-réactif du même isotype, conjugué au même fluorochrome, en tant que contrôle négatif (voir tableau).
6. Laisser incuber à l'obscurité, à 4 °C, pendant 30 minutes.
7. Laver deux fois avec du PBS contenant 2% de BSA. Remettre les cellules en suspension dans un liquide adapté à la cytométrie en flux, par exemple 0,3 mL de paraformaldéhyde (fixateur) dans du PBS 0,01 mol/L, à pH 7,4.
8. Analyser sur un cytomètre en flux.

Il est recommandé d'inclure un échantillon de contrôle positif et négatif appropriés à chacune des exécutions pour le contrôle du réactif et de la préparation. Remarque que les conjugués fluorochromes sont photosensibles, les échantillons doivent donc être protégés de la lumière pendant la procédure d'immunomarquage et jusqu'à l'analyse.

Zweckbestimmung Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

F 0801 und R 0811 sind für den durchflusszytometrischen Gebrauch bestimmt. Die Befunde müssen unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren von einem erfahrenen Pathologen interpretiert werden.

Synonyme Bezeichnungen des Antigens Interleukin-2-Rezeptor (IL-2R), Interleukin-2-Rezeptor α -Kette, Tac-Antigen (1, 2, 3).

Einleitung Die Interleukin-2-Rezeptoren bestehen aus drei Polypeptiden (α , β , γ), welche in verschiedenen Kombinationen IL-2 binden (1). Die 55 kDa α -Kette wird als CD25 bezeichnet (3). Die α -Kette allein, der $\beta\gamma$ -Heterodimer und der $\alpha\beta\gamma$ -Heterotrimer bilden IL-2R niedriger, mittlerer beziehungsweise hoher Affinität. IL-2R mittlerer und hoher Affinität kommt eine Rolle bei der intrazellulären Signaltransduktion zu (1).

CD25 wird stark exprimiert auf der Oberfläche der T-Zellen, die von Antigenen, Mitogenen (Phytohämagglutinin A (PHA), Concanavalin A (Con-A), Kermesbeeren-Mitogen (PWM)), *Staphylococcus aureus*, Viren (HTLV-I, HTLV-II, Epstein-Barr-Virus) (4, 5) aktiviert wurden. Es wird gleichfalls auf durch den Anti-IgM-Antikörper stimulierten B-Zellen sowie auf durch Lipopolysaccharid stimulierten Monozyten/Makrophagen exprimiert (6). Im normalen peripheren Blut wird eine unterschiedliche Färbung der lymphoiden Zellen (circa 3 – 25%) beobachtet.

Geliefertes Reagenz Die Anti-CD25-Konjugate F 0801 und R 0811 stammen von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper. Die Konjugate werden in einer gepufferten Lösung mit 1 % bovinem Serumalbumin (BSA) und 15 mmol/L NaN_3 , pH 7,2, geliefert. Jedes Fläschchen ist für 100 Tests ausreichend (10 μl Konjugat ist für bis zu 10^6 PHA-stimulierte, aus normalem peripherem Blut isolierte Lymphozyten ausreichend).

Isotyp: IgG1, Kappa. Konjugat-Konzentration mg/l: Siehe Produktetikett.

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F 0801	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X 0927
R 0811	RPE (R-Phycoerythrin)	X 0928

Immunogen Phytohämagglutinin-stimulierte Lymphozyten aus peripherem Blut.

Spezifität Die Spezifität von Anti-CD25, ACT-1, ist mit derjenigen der CD25-Antikörpergruppe identisch, wie durch die Analyse der Immunopräzipitate und des immunzytochemischen Markierungsmusters aufgezeigt wird (7, 8).

Hinweise und 1. Für geschultes Fachpersonal.

Vorsichtsmaßnahmen 2. Dieses Produkt enthält Natrium-Azid (NaN_3), 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.

3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.

Lagerung Im Dunkeln bei 2 – 8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Produkt 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.

Färbeprozedur

1. Venöse Blutprobe in ein Probenröhrchen mit gerinnungshemmendem Mittel gewinnen.
2. Mononukleäre Zellen durch Zentrifugieren auf einem Abtrennungsmittel isolieren. Alternativ hierzu können die Erythrozyten im Anschluss an Schritt 6 aufgelöst werden.
3. Die mononukleären Zellen zweimal mit RPMI 1640 oder mit PBS, pH 7,2-7,4, waschen.
4. 100 μL der Zellsuspension mit 10 μL des fluorochromkonjugierten Anti-CD25 mischen.
5. Als Negativkontrolle einen nicht reaktiven, monoklonalen Antikörper des gleichen Isotyps, konjugiert an dasselbe Fluorochrom, verwenden (s. Tabelle).
6. Im Dunkeln bei 4 °C 30 Minuten lang inkubieren.
7. Zweimal mit PBS waschen, das 2% BSA enthält. Die Zellen in einer für Durchflusszytometrie geeigneten Flüssigkeit, z. B. 0,3 ml 1%igem Paraformaldehyd (Fixativ) in 0,01 mol/L PBS, pH 7,4, resuspendieren.
8. Im Durchflusszytometer analysieren.

Es wird empfohlen, eine geeignete Positiv- und Negativkontrolle für jede Durchführung der Reagenz- und Präparationsprüfung mitzuführen. Es ist zu beachten, dass Fluorochromkonjugate lichtempfindlich sind und dass die Proben während der Färbeprozedur und bis zur Durchführung der Analyse vor Licht geschützt werden müssen.









References/ Références/ Literatur

1. Ishii N, Kondo M, Takeshita T, Sugamura K. CR2.1. mAb specific for the γ chain of the IL-2 receptor. 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.1867-8.
2. Leonard WJ, Depper JM, Robb RJ, Waldmann TA, Greene WC. Characterization of the human receptor for T-cell growth factor. Proc Natl Acad Sci (USA) 1983;80:6957-61.
3. Kikutani H, Kishimoto T. CR1. The cytokine receptors: section 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.1855-64.

4. Uchiyama T, Broder S, Waldmann TA. A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature human T cells. I. Production of anti-Tac monoclonal antibody and distribution of Tac (+) cells. J Immunol 1981;126:1393-7.
5. Uchiyama T, Nelson DL, Fleisher TA, Waldmann TA. A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature T cells. II. Expression of Tac antigen on activated cytotoxic killer T cells, suppressor cells, and on one of two types of helper T cells. J Immunol 1981;126:1398-1403.
6. Sugamura K. CD25. 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. 1127-8.
7. Schwarting R, Gerdes J, Ziegler A, Stein H. Immunoprecipitation of the interleukin-2-receptor from Hodgkin's disease derived cell lines by monoclonal antibodies. Hematol Oncol 1987;5:57-64.
8. Aziz KE, McCluskey PJ, Wakefield D. Expression of selectins (CD62 E,L,P) and cellular adhesion molecules in primary Sjögren's syndrome: questions to immunoregulation. Clin Immunol Immunopathol 1996;80:55-66.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

 Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Keep away from sunlight (consult storage section) Conserver à l'écart du soleil (se reporter à la section conservation) Lichtgeschützt lagern (siehe Abschnitt zur Lagerung)	 Manufacturer Fabricant Hersteller
 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	