

Monoclonal Mouse
Anti-Human CD71, Transferrin Receptor/FITC
 Clone Ber-T9
Code No./ Code/ Code-Nr. F 0829
 Edition/ Ausgabe 01.01.03

ENGLISH

Intended use For in vitro diagnostic use.
 F 0829 is 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 certified professional.

Synonyms for antigen T9, Transferrin Receptor (1)

Introduction CD71 is a 190 kDa disulfide-bonded homodimeric type II transmembrane glycoprotein. CD71 is the receptor for transferrin. CD71 is involved in iron (Fe³⁺) uptake, and expression is regulated by the metabolic demand for iron, which is essential for the growing cell (1). *In vitro* studies of human leukaemia cell lines, breast carcinoma cell line and fresh human leukaemic and glioblastoma cells have shown that CD71 is mainly expressed at the transition from G0/G1 to S-phase (2).
 CD71 is more abundantly expressed in rapidly dividing cells than quiescent cells (3, 4, 7). In normal tissues, high expression of CD71 is seen in the placental trophoblast and haemoglobin-synthesizing reticulocytes (3) but expression is lost in mature erythrocytes (4). Activated, but not resting lymphocytes express CD71 (5, 6). The proliferation status in both normal and neoplastic cells correlate with CD71 expression (3, 4).

Reagent provided The Anti-CD71 conjugate, F 0829, has been produced from a purified monoclonal mouse antibody. The conjugate is provided in liquid form in buffer containing 1% bovine serum albumin (BSA) and 15 mmol/L NaN₃, pH 7.2. Each vial contains 100 tests (10 µL of conjugate for up to 10⁶ A431 cells).
Isotype: IgG1, kappa. **Conjugate concentration mg/L:** See label on vial.

Antibody Code No.	Fluorochrome	Negative Control Code No.
F 0829	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X 0927

Specificity Anti-CD71, Ber-T9, was included in the Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens, and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD71 (8).

Precautions

- For professional users.
- 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.
- 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

- Collect venous blood into a test tube containing an anticoagulant.
- Isolate mononuclear cells by centrifugation on a separation medium. Alternatively, lyse the red cells after step 6.
- Wash the mononuclear cells twice with RPMI 1640 or PBS, pH 7.2-7.4.
- Mix 100 µL cell suspension with 10 µL F 0829.
- Use a non-reactive monoclonal antibody of the same isotype, and conjugated with the same fluorochrome, as a negative control (see table).
- Incubate in the dark at 4 °C for 30 minutes.
- Wash twice with PBS containing 2% BSA. Resuspend the cells in each test tube in an appropriate fluid for flow cytometry, e.g. 0.3 mL 1% paraformaldehyde (fixative) in 0.01 mol/L PBS, pH 7.4.
- 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.

FRANÇAIS

Intérêt Pour diagnostic *in vitro*.
 F 0829 est destiné pour un usage en cytométrie de flux. L'interprétation des résultats doit être entreprise par un professionnel certifié dans le contexte de l'historique clinique du patient et des autres examens diagnostics.

Synonymes de l'antigène T9, Récepteur de Transferrine (1)

Introduction CD71 est une glycoprotéine transmembranaire 190 kDa à pont disulfure homodimérique type II. CD71 est un récepteur pour la transferrine. CD71 est impliqué dans la fixation du fer (Fe³⁺), et l'expression est régulée par la demande métabolique pour le fer, qui est essentielle pour la croissance cellulaire (1). Les études *In vitro* des lignes cellulaires de la leucémie humaine, les lignes cellulaires du carcinome du sein et cellules fraîches leucémiques humaines et cellules glioblastomes ont révélé que CD71 est principalement exprimé à la phase de transition de G0/G1 à S (2).
 CD71 est exprimé plus abondamment dans les cellules à division rapide que dans les cellules quiescentes (3, 4, 7). Dans les tissus normaux, une expression élevée de CD71 est observée dans le trophoblaste placentaire et réticulocytes synthétisant l'hémoglobine (3) mais l'expression est perdue dans les érythrocytes mûres (4). Les lymphocytes activées mais pas au repos expriment CD71 (5, 6). L'état de prolifération dans les cellules normales aussi bien que néoplasiques sont en corrélation avec l'expression de CD71 (3, 4).

Réactif fourni Le conjugué Anti-CD71, F 0829, a été produit à partir d'un anticorps monoclonal purifié de la souris. Le conjugué est fourni à l'état liquide en tampon contenant 1% d'albumine de sérum bovin (BSA) et du NaN₃ à 15 mmol/l, pH 7,2. Chaque flacon contient 100 tests (10 µl de conjugué pour un maximum de 10⁶ A431 de cellules).
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 0829	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X 0927

Spécificité Anti-CD71, Ber-T9, était compris durant la Cinquième Conférence-Atelier Internationale sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains, et des analyses par plusieurs laboratoires ont mis en évidence sa réactivité avec CD71 (8).

Précautions d'emploi

- Pour utilisateurs professionnels.
- Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique sous forme pure. 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.
- Comme pour tout dérivé biologique dangereux à manipuler, une précision s'impose.

Stockage 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

- Prélever le sang veineux dans un tube à essais contenant un anticoagulant.
- Isoler les cellules mononucléaires par centrifugation dans un milieu de séparation. Sinon, lyser les globules rouges après l'étape 6.
- Laver les cellules mononucléaires deux fois avec du RPMI 1640 ou du PBS, à 7,2-7,4 de pH.
- Mélanger 100 µl de suspension cellulaire avec 10 µl F 0829.
- Utiliser un anticorps monoclonal non-réactif du même isotype, conjugué au même fluorochrome, en tant que contrôle négatif (voir tableau).
- Laisser incubé à l'obscurité, à 4°C, pendant 30 minutes.
- Laver deux fois avec du PBS contenant 2% de BSA. Re-suspendre les cellules dans chaque tube à essai dans une solution appropriée pour cytométrie de flux, par ex 0,3 ml 1% de paraformaldéhyde (fixateur) dans 0,01 mol/l PBS, pH 7,4.
- Analyser sur un cytomètre en flux.

Il est recommandé d'inclure un échantillon de contrôle positif et négatif adéquat à chacune des exécutions pour le contrôle du réactif et de la préparation. Noter que les conjugués fluorochromes sont sensibles à la lumière, et les échantillons doivent être protégés de cette dernière au cours de la procédure d'immunomarquage et jusqu'à l'analyse.

DEUTSCH

Zweckbestimmung Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.
 F 0829 ist für die durchflusszytometrische Anwendung bestimmt. Die Befunde müssen unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren von einem zertifizierten Facharzt interpretiert werden.

Synonyme Bezeichnungen des Antigens T9, Transferrin-Rezeptor (1)

Einleitung CD71 ist ein Disulfid-gebundenes, homodimeres Transmembranglykoprotein des Typs II mit 190 kDa. CD71 ist der Rezeptor für Transferrin. CD71 ist an der Aufnahme von Eisen (Fe³⁺) beteiligt, und seine Expression wird durch die metabolische Nachfrage nach Eisen geregelt, das für die wachsende Zelle lebenswichtig ist (1). *In-vitro*-Studien an menschlichen Leukämiezelllinien, Brustkrebszelllinien und frischen menschlichen Leukämie- und Glioblastomzellen haben gezeigt, dass CD71 hauptsächlich beim Übergang von G0/G1 zur S-Phase exprimiert wird (2).

CD71 wird an sich schnell teilenden Zellen reichlicher exprimiert als an Zellen im Ruhezustand (3, 4, 7). In normalen Geweben findet die Expression von CD71 in Plazentatrophoblasten und Hämoglobin synthetisierenden Retikulozyten (3) statt, verliert sich jedoch bei reifen Erythrozyten (4). CD71 wird von aktivierten, jedoch nicht von ruhenden Lymphozyten exprimiert (5, 6). Der Proliferationsstatus bei sowohl normalen als auch neoplastischen Zellen korreliert mit der CD71-Expression (3, 4).

Geliefertes Reagenz Das Anti-CD71-Konjugat F 0829 stammt von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper. Das Konjugat wird in einer gepufferten Lösung mit 1 % bovinem Serumalbumin (BSA) und 15 mmol/l NaN₃, pH 7,2, geliefert. Jedes Fläschchen ist für 100 Tests ausreichend (10 µl des Konjugats für bis 10⁶ A431-Zellen).

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

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F 0829	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X 0927

Spezifität Anti-CD71, Ber-T9, wurde Kontext des „Fifth International Workshop and Conference on Human Human Leucocyte Differentiation Antigens“ aufgenommen und Studien in einigen Laboratorien bestätigten seine Reaktivität mit CD71 (8).

Hinweise und 1. Für geschultes Fachpersonal.

Vorsichtsmaßnahmen 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.

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 F 0829 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 jedem Probenröhrchen in einer für Flowzytometrie 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. Goding J. CD71. CD Guide. In: Mason D, André P, Bensussan A, Buckley C, Civin C, Clark E, et al., editors. Leucocyte typing VII. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 7th International Workshop and Conference; 2000 Jun 19-23; Harrogate, United Kingdom. New York: Oxford University Press Inc.; 2002. p. 823-4.
2. Danova M, Riccardi A, Giordano M, Girino M, Mazzini G, Dezza L, et al. Cell cycle-related proteins: a flow cytometric study in human tumors. *Biol Cell* 1988;64:23-8.
3. Newman R, Schneider C, Sutherland R, Vodineli L, Greaves M. The transferrin receptor. [Review]. *Trends Biochem Sci* 1982;1:397-400.
4. Sutherland R, Delia D, Schneider C, Newman R, Kemshead J, Greaves M. Ubiquitous cell-surface glycoprotein on tumor cells is proliferation-associated receptor for transferrin. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1981;78:4515-9.

5. Cotner T, Williams JM, Christenson L, Shapiro HM, Strom TB, Strominger J. Simultaneous flow cytometric analysis of human T cell activation antigen expression and DNA content. *J Exp Med* 1983;157:461-72.
6. Klein J, ed. Natural history of the major histocompatibility complex. London: John Wiley & Sons, 1986:297-300.
7. Gatter KC, Brown G, Trowbridge IS, Woolston RE, and Mason DY. *J Clin Pathol* 1983;36:539-45
8. Boeker M, Werfel T. AA12.1. Binding of activation antigen panel mAb to mononuclear cells after antigen-specific stimulation in vitro. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, et al., editors. Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 5th International Workshop and Conference; 1993 Nov 3-7; Boston, USA. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. p. 1181-2.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

 Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 2 °C – 8 °C 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	