



CE

IntraStain

Code No./ Code/ Code-Nr. K 2311

3rd edition / 3ème édition/ 3. Ausgabe

Fixation and permeabilization kit for flow cytometry.

The kit contains reagents for 100 tests.

Kit de fixation et de perméabilisation pour la cytométrie de flux.

Ce kit contient des réactifs pour 100 tests.

Fixierungs- und Permeabilisierungskit für Flowzytometrie.

Das Kit enthält Reagenzien für 100 Kalibrierungen.

Contents/ Table des matières/ Inhalt

Page/ Page/ Seite

ENGLISH

Intended Use	3
Reagents	3
A. Materials provided	3
B. Materials required but not provided.....	3
Precautions	4
Storage.....	4
Sample Preparation and Staining Procedure	4
Reaction Patterns When Using the IntraStain Procedure	5
Limitations	5
References.....	12
Explanation of symbols.....	12

FRANÇAIS

Intérêt	6
Réactifs	6
A. Matériels fournis	6
B. Matériels requis mais non fournis	6
Précautions d'emploi	7
Conservation	7
Préparation des échantillons et procédure de coloration	7
Modèles de réaction lors de l'utilisation de la procédure IntraStain.....	8
Limites spécifiques du produit	8
Références.....	12
Légende des symboles.....	12

DEUTSCH

Zweckbestimmung.....	9
Reagenzien	9
A. Packungsinhalt	9
B. Zusätzlich benötigte Reagenzien und Zubehör (außerhalb des Lieferumfangs).....	9
Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen.....	10
Lagerung	10
Probenvorbereitung und Färbeverfahren.....	10
Reaktionsmuster bei der Verwendung des IntraStain-Verfahrens	11
Einschränkungen.....	11
Literatur	12
Erläuterung der Symbole.....	12

ENGLISH

Intended Use

For In vitro diagnostic use.

IntraStain is intended for fixation and permeabilization of single-cell suspensions for use in flow cytometry. The IntraStain procedure allows immunological detection of intracellular antigens, while the cellular structure, morphology scatter, and cell surface immunoreactivity remains intact. Cells treated with IntraStain can, therefore, be identified in flow cytometry by their light scatter properties and surface marker expression, while simultaneously being analysed for intracellular antigens (1, 2). Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.

Reagents

A. Materials provided

Vial 1

FIXATIVE

IntraStain Reagent A, Fixative

10 mL ready-to-use reagent. For 100 tests.

Vial 2

PERMEABILIZATION

IntraStain Reagent B, Permeabilization

10 mL ready-to-use reagent. For 100 tests.

B. Materials required but not provided

1. Fluorochrome-Conjugated Antibodies

Monoclonal or polyclonal fluorochrome-conjugated antibodies directed against intracellular or surface antigens.

2. Negative Controls

For monoclonal antibodies, DakoCytomation offers a range of isotype-matched FITC, RPE, RPE-Cy5 and APC-conjugated negative controls.

For polyclonal antibodies, DakoCytomation provides FITC and RPE-conjugated negative controls for the F(ab')₂ fragment of rabbit antibodies.

The optimal concentration of the negative control may vary depending on the specimen and preparation method, and should be determined by each individual laboratory.

3. Phosphate-Buffered Saline (PBS) Stock Solution (10 x concentrated)

80.0 g NaCl

0.2 g KH₂PO₄

14.4 g Na₂HPO₄, 2H₂O

2.0 g KCl

Add distilled water to 1 litre. Check pH. At a dilution of 1:10 the pH should be 7.4 ± 0.1.

4. PBS Working Solution (0.01 mol/L PBS)

Add 100 mL of PBS Stock Solution to 900 mL of distilled water.

5. 1% Paraformaldehyde in PBS

Add 1.0 g paraformaldehyde to 90 mL of 70 °C distilled water. Leave at 70 °C for 15-30 minutes in a fume hood. Add 10 mL of PBS Stock Solution and allow to cool. Store at 4 °C. Stable for no longer than three weeks.

General laboratory equipment for flow cytometry procedures.

Precautions

1. For professional users.
2. IntraStain Reagent A, Fixative, contains 5-10% formaldehyde, and is labelled: Harmful.
R20/21/22 Harmful by inhalation, in contact with skin and if swallowed.
R36/37/38 Irritating to eyes, respiratory system and skin.
R40 Limited evidence of a carcinogenic effect.
R43 May cause sensitisation by skin contact.
S26 In case of contact with eyes, rinse immediately with plenty of water and seek medical advice.
S35 This material and its container must be disposed of in a safe way.
S36/37 Wear suitable protective clothing and gloves.
As a main rule, persons under 18 years of age are not allowed to work with this product.
Users must be carefully instructed in the proper working procedure, the dangerous properties of the product and the necessary safety instructions. Please refer to the Material Safety Data Sheet (MSDS) for additional information.

Storage

Store kit at room temperature. Do not use after expiration date stamped on vials. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. If unexpected results are observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the product is suspected, contact our Technical Services.

Sample Preparation and Staining Procedure

1. Transfer 50 µL (up to 10^6 cells) of the cell suspension to be analysed (whole blood, bone marrow or mononuclear cells) to each of two test tubes, labelled 1 and 2 (test and control).
2. *This step is omitted if only intracellular staining is performed.* To test tube 1, add an appropriate volume of fluorochrome-conjugated antibody specific for **the cell surface antigen** to be stained. To test tube 2, add an appropriate volume of a suitably matched fluorochrome-conjugated negative control. Incubate for 15 minutes in the dark at room temperature.
3. Add 100 µL IntraStain Reagent A, Fixative, to each test tube. Mix gently with a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension.
4. Incubate at room temperature for 15 minutes.
5. Add 2 mL PBS Working Solution to each test tube and mix gently.
6. Centrifuge at 300 x g for 5 minutes, then aspirate the supernatant, leaving approximately 50 µL of fluid. Mix thoroughly to ensure that the cells are in suspension.
7. Add 100 µL IntraStain Reagent B, Permeabilization, to each test tube. To test tube 1, add an appropriate volume of fluorochrome-conjugated antibody specific for **the intracellular antigen** to be stained. To test tube 2, add an appropriate volume of a suitably matched fluorochrome-conjugated negative control. Mix gently to ensure that the cells are in suspension.
8. Incubate in the dark at room temperature for 15 minutes.
9. Repeat steps 5 and 6.
10. Resuspend the pellet in an appropriate fluid for flow cytometric analysis.
11. Analyse on a flow cytometer. If the samples are not analysed immediately, they may be stored in the dark at 2-8 °C for up to 8 hours.

NOTE: If the cell-surface antigen is formalin resistant, it is possible to incubate the cells with the cell-surface-reactive and the intracellular-reactive antibodies simultaneously. Thus, omit step 2 only, and add in step 7 both antibodies to test tube 1, and both negative controls to test tube 2.

Reaction Patterns When Using the IntraStain Procedure

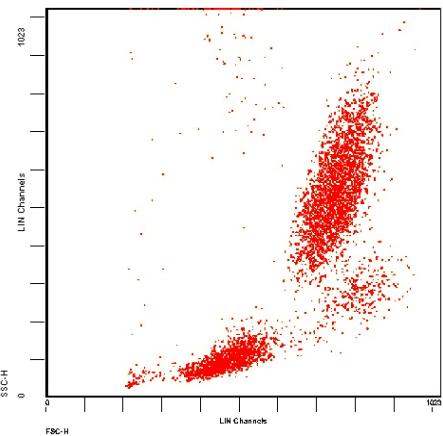


Figure 1. Forward scatter versus side scatter representation of a normal blood sample.

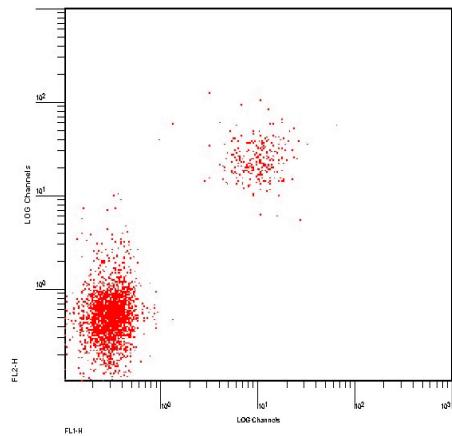


Figure 2. Surface (CD19) versus intracellular (CD79 α cy) antigen. Cells from a normal blood sample labelled with Anti-CD19/FITC, Clone HD37, code No. F 0768, and Anti-CD79 α cy/RPE, Clone HM57, code No. R 7159.

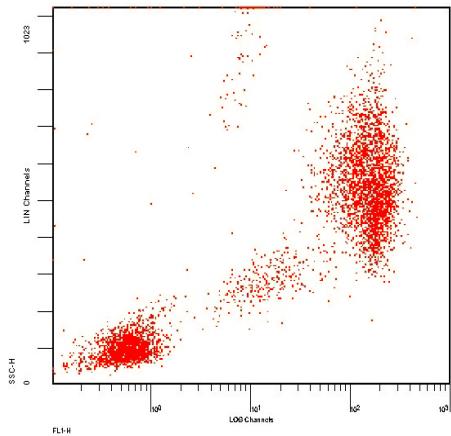


Figure 3. Intracellular antigen (MPO) versus side scatter. Cells from a normal blood sample labelled with Anti-MPO/FITC, Clone MPO-7, code No. F 0714.

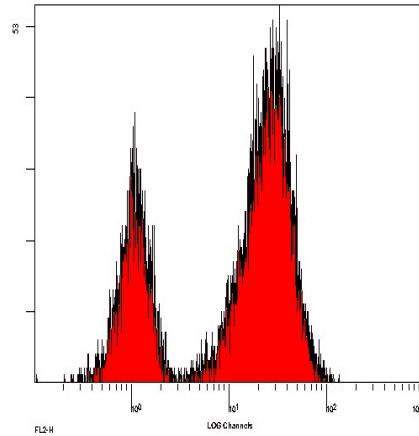


Figure 4. A mixture of 70% CEM and 30% RAJI cells (which both contain intracellular CD3) labelled with Anti-CD3/RPE, clone UCHT1, code No. R 0810.

Limitations

Most fluorochrome-conjugated antibodies directed against intracellular or surface antigens are suitable for use together with IntraStain. Some antigen determinations, however, are sensitive to fixation with formaldehyde. In the test procedure, particular attention should be paid to the formalin resistance of the intracellular antigen.

FRANÇAIS

Intérêt

Pour diagnostic in vitro.

IntraStain est destiné à la fixation et à la perméabilisation de suspensions unicellulaires pour une utilisation en cytométrie de flux. La procédure IntraStain permet la détection immunologique des antigènes intracellulaires, tout en maintenant intacte la structure cellulaire, la dispersion morphologique, et l'immunoréactivité de la surface cellulaire. Les cellules traitées avec IntraStain peuvent, dès lors, être identifiées en cytométrie de flux en raison de leurs propriétés de diffusion lumineuse et de l'expression des marqueurs de surface, lorsqu'elles sont analysées simultanément pour les antigènes intracellulaires (1, 2). L'interprétation des résultats doit être entreprise par un professionnel agréé dans le contexte de l'histoire clinique du patient et des autres examens diagnostiques.

Réactifs

A. Matériels fournis

Flacon 1

FIXATIVE

IntraStain Reagent A, Fixateur

10 mL réactif prêt-à-l'emploi. Pour 100 tests.

Flacon 2

PERMEABILIZATION

IntraStain Réactif B, Perméabilisation

10 mL réactif prêt-à-l'emploi. Pour 100 tests.

B. Matériels requis mais non fournis

1. Anticorps conjugués au fluorochrome

Anticorps monoclonaux ou polyclonaux conjugués au fluorochrome dirigés contre les antigènes intracellulaires et de surface.

2. Contrôles négatifs

Pour les anticorps monoclonaux, DakoCytomation propose une gamme de contrôles négatifs conjugués à des isotypes correspondant à FITC, RPE, RPE-Cy5 et APC.

Pour les anticorps polyclonaux, DakoCytomation fournit des contrôles négatifs conjugués à FITC et RPE pour le fragment F(ab')₂ des anticorps de lapin.

Les conditions optimales peuvent varier selon l'échantillon et la méthode de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire particulier.

3. Solution tampon phosphate (PBS) Solution de base (concentrée 10 x)

80 g NaCl

0,2 g KH₂PO₄

14,4 g Na₂HPO₄, 2H₂O

2 g KCl

Ajoutez de l'eau jusqu'à 1 litre. Vérifiez le pH. À la dilution de 1:10 le pH doit être de 7,4 ± 0,1.

4. Solution de travail PBS (0,01 mol/L PBS)

Ajoutez 100 mL de solution de base PBS à 900 mL d'eau distillée.

5. Paraformaldéhyde 1 % dans PBS

Ajoutez 1 g de paraformaldéhyde à 90 mL d'eau distillée à 70 °C. Laissez à 70 °C pendant 15 à 30 minutes dans une hotte de vapeur. Ajoutez 10 mL de solution mère PBS et laissez refroidir. Conservez à 4 °C. Stable pour une période n'excédant pas trois semaines.

Équipement général de laboratoire pour les procédures de cytométrie de flux.

Précautions d'emploi

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. IntraStain réactif A, fixateur, contient de 5 à 10 % de formaldéhyde, et est étiqueté : Nocif.
R20/21/22 Dangereux en cas d'inhalation , de contact avec la peau ou en cas d'ingestion.
R36/37/38 Irritant pour les yeux, le système respiratoire et la peau.
R40 Preuve limitée d'effet carcinogène.
R43 Risque de sensibilisation suite à un contact dermique.
S26 En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement avec de grande quantités d'eau et consulter un médecin.
S35 Ce matériel et son récipient doivent être éliminés de façon sûre.
S36/37 Porter des vêtements protecteurs et des gants appropriés.
En règle générale, les personnes âgées de moins de 18 ans ne doivent pas être autorisées à travailler avec ce produit. Les utilisateurs doivent lire soigneusement les instructions d'utilisation, les propriétés dangereuses de ce produit et les instructions nécessaires en matière de sécurité. Veuillez-vous référer à la Fiche des Données de Sécurité du Matériel (MSDS) pour de plus amples informations.

Conservation

Stocker ce kit à température ambiante. Ne pas utiliser après la date de péremption inscrite sur les flacons. Si les réactifs ont été conservés dans d'autres conditions que celles spécifiées, ces conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. 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 des échantillons et procédure de coloration

1. Transférez 50 µL (jusqu'à 10^6 de cellules) de la suspension cellulaire à analyser (sang total, moelle osseuse ou cellules mononucléaires) dans chacun des deux tubes à essai 1 et 2 (test et contrôle).
2. *Cette étape n'a pas lieu d'être uniquement si un marquage intracellulaire est effectué.* Au tube à essai 1, ajoutez un volume approprié d'anticorps conjugué au fluorochrome spécifique pour la coloration de l'**antigène de surface cellulaire**. Au tube à essai 2, ajoutez un volume approprié de contrôle négatif adéquat conjugué au fluorochrome. Laissez incuber dans l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante.
3. Ajoutez 100 µL de réactif A IntraStain, fixateur, à chaque tube à essai. Mélangez soigneusement à l'aide d'un mélangeur vortex pour s'assurer que les cellules sont en suspension.
4. Incubez à température ambiante pendant 15 minutes.
5. Ajoutez 2 mL de solution de travail PBS à chaque tube à essai et mélangez doucement.
6. Centrifugez à 300 g pendant 5 minutes, puis aspirez le surnageant et conservez environ 50 µL de liquide. Mélangez soigneusement pour s'assurer que les cellules sont en suspension.
7. Ajoutez 100 µL de réactif B IntraStain, perméabilisation, à chaque tube à essai. Au tube à essai 1, ajoutez un volume approprié d'anticorps conjugué au fluorochrome spécifique pour la coloration de l'**antigène intracellulaire**. Au tube à essai 2, ajoutez un volume approprié de contrôle négatif adéquat conjugué au fluorochrome. Mélangez soigneusement pour s'assurer que les cellules sont en suspension.
8. Laissez incuber dans l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante.
9. Recommencer les étapes 5 et 6.

10. Remettre en suspension les culots dans un liquide adéquat pour l'analyse par cytométrie de flux.
11. Analyser sur un cytomètre en flux. Si les échantillons ne sont pas analysés immédiatement, ils peuvent être conservés pendant 8 heures dans l'obscurité à une température de 2 à 8 °C.

REMARQUE: Si l'antigène de surface est résistant au formol, il est possible d'incuber simultanément les cellules avec des anticorps réactifs de surface cellulaire et avec des anticorps réactifs de surface intracellulaire. Donc, passez l'étape 2 uniquement, et ajoutez dans l'étape 7 les deux anticorps au tube à essai 1, et les deux contrôles négatifs au tube à essai 2.

Modèles de réaction lors de l'utilisation de la procédure IntraStain

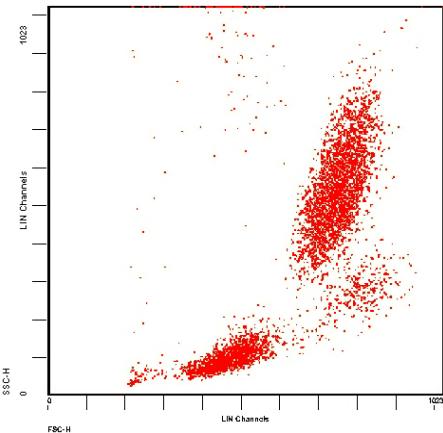


Figure 1. Représentation de la dispersion avant en fonction de la dispersion de côté dans les échantillons de sang normal

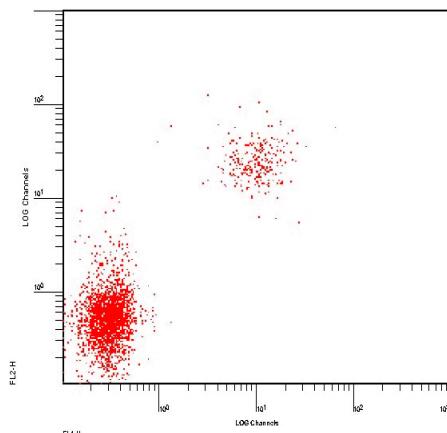


Figure 2. Antigène de surface (CD19) en fonction de l'antigène intracellulaire (CD79αcy). Cellules d'un échantillon de sang normal marqué avec Anti-CD19/FITC, Clone HD37, code F 0768, et Anti-CD79αcy/RPE, Clone HM57, code R 7159.

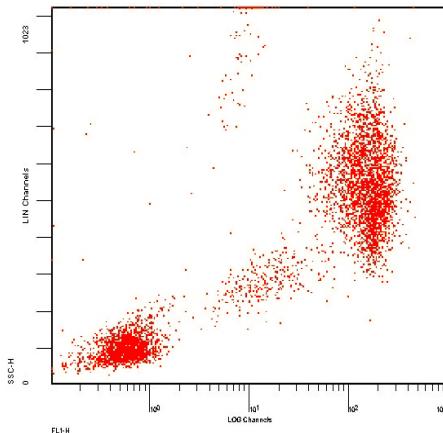


Figure 3. Antigène intracellulaire (MPO) en fonction de la dispersion de côté. Cellules d'un échantillon de sang normal marqué avec Anti-MPO/FITC, Clone MPO-7, code F 0714.

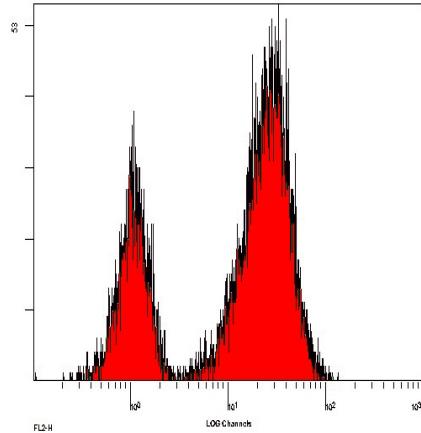


Figure 4. Mélange de cellules avec 70% CEM et 30% RAJI (les deux contiennent CD3 intracellulaire) marqué avec Anti-CD3/RPE, clone UCHT1, code R 0810.

Limites spécifiques du produit

La plupart des anticorps conjugués au fluorochrome dirigés contre les antigènes intracellulaires ou de surface conviennent à l'utilisation avec IntraStain. Cependant, certaines déterminations de l'antigène sont sensibles à la fixation avec le formaldéhyde. Dans la procédure de test, une attention particulière doit être accordée à la résistance au formol de l'antigène intracellulaire.

DEUTSCH

Zweckbestimmung

Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.

IntraStain ist für die Fixierung und Permeabilisierung von Einzelzellsuspensionen für den durchflusszytometrischen Gebrauch bestimmt. Mit dem IntraStain-Verfahren können intrazelluläre Antigene immunologisch nachgewiesen werden, wobei die Zellstruktur, Morphologiestreuung und Zelloberflächenimmunreakтивität intakt bleiben. Mit IntraStain behandelte Zellen können daher anhand von Flowzytometrie an deren Lichtstreuungseigenschaften und Oberflächenmarkerexpression identifiziert werden, wobei diese gleichzeitig auf intrazelluläre Antigene analysiert werden (1, 2). Die Befunde müssen unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren von einem zertifizierten Facharzt interpretiert werden.

Reagenzien

A. Packungsinhalt

Fläschchen 1 FIXATIVE

IntraStain Reagenz A, Fixativ

10 mL gebrauchsfertiges Reagenz. Für 100 Tests.

Fläschchen 2 PERMEABILIZATION

IntraStain Reagenz B, Permeabilisierung

10 mL gebrauchsfertiges Reagenz. Für 100 tests.

B. Zusätzlich benötigte Reagenzien und Zubehör (außerhalb des Lieferumfangs)

1. Fluorochromkonjugierte Antikörper

Monoklonale oder polyklonale fluorochromkonjugierte Antikörper, die gegen intrazelluläre oder Oberflächenantigene gerichtet sind.

2. Negativkontrollen

Für monoklonale Antikörper bietet DakoCytomation eine breite Palette an isotyp-abgestimmten FITC, RPE, RPE-Cy5 und APC-konjugierten Negativkontrollen.

Für polyklonale Antikörper bietet DakoCytomation FITC und RPE-konjugierte Negativkontrollen für das F(ab')₂-Fragment von Kaninchen-Antikörpern.

Die optimale Konzentration der Negativkontrolle kann variieren, z.B. abhängig von der Probe und der Vorbereitungsmethode, und sollte vom jeweiligen Labor bestimmt werden.

3. Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) Vorratslösung (10 x konzentriert)

80,0 g NaCl

0,2 g KH₂PO₄

14,4 g Na₂HPO₄, 2H₂O

2,0 g KCl

Destilliertes Wasser zu 1 Liter zugeben. pH-Wert prüfen. Bei einer Verdünnung von 1:10 sollte der pH-Wert 7,4 ± 0,1 sein.

4. PBS-Arbeitslösung (0,01 mol/L PBS)

100 mL PBS-Vorratslösung zu 900 mL destilliertem Wasser zugeben.

5. 1% Paraformaldehyd in PBS

1,0 g Paraformaldehyd zu 90 mL destilliertem Wasser bei 70 °C zugeben. Bei 70 °C 15-30 Minuten in einer Abzugshaube lassen. 10 mL PBS-Vorratslösung zugeben und abkühlen lassen. Bei 4 °C lagern. Höchstens drei Wochen lang stabil.

Allgemeine Laborgeräte für flowzytometrische Verfahren.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Für geschultes Fachpersonal.
2. IntraStain Reagenz A, Fixativ, enthält 5-10% Formaldehyd und ist mit folgendem Etikett versehen:

Gesundheitsschädlich.
R20/21/22 Gesundheitsschädlich bei Inhalation, Hautkontakt und Verschlucken.
R36/37/38 Löst eine Irritation der Augen, der Atemwege und Haut aus.
R40 Verdacht auf krebserzeugende Wirkung.
R43 Sensibilisierung durch Hautkontakt möglich.
S26 Bei Kontakt mit den Augen sofort mit reichlich Wasser spülen und einen Arzt um Rat bitten.
S35 Abfälle und Behälter müssen in gesicherter Weise beseitigt werden.
S36/37 Bei der Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.
Personen unter 18 Jahren ist es grundsätzlich nicht gestattet, mit diesem Produkt zu arbeiten. Benutzer müssen sorgfältig in die richtigen Arbeitsverfahren eingewiesen und über die gefährdenden Eigenschaften des Produkts und die notwendigen Sicherheitsvorschriften informiert werden. Weitere Angaben sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen.

Lagerung

Kit bei Zimmertemperatur lagern. Nicht nach dem auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfallsdatum verwenden. Falls die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt werden, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Wenn unerwartete Resultate beobachtet werden, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden können und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Produkt besteht, ist bitte Kontakt mit unserem technischen Kundendienst aufzunehmen.

Probenvorbereitung und Färbeverfahren

1. 50 µL (bis zu 10^6 Zellen) der zu analysierenden Zellsuspension (Vollblut, Knochenmark oder mononukleäre Zellen) in jedes der beiden mit 1 und 2 gekennzeichneten Teströhrchen (Test und Kontrolle) geben.
2. *Dieser Schritt entfällt, wenn nur eine intrazelluläre Färbung durchgeführt wird.* In Teströhrchen 1 ein entsprechendes Volumen fluorochromkonjugierten Antikörper, der für das zu färbende **Zelloberflächenantigen** spezifisch ist, zugeben. In Teströhrchen 2 ein entsprechendes Volumen einer passend abgestimmten fluorochromkonjugierten Negativkontrolle geben. Im Dunkeln bei Raumtemperatur 15 Minuten lang inkubieren.
3. 100 µL IntraStain Reagenz A, Fixativ, in jedes Teströhrchen geben. Vorsichtig in einem Vortexmixer mischen, um sicherzustellen, dass die Zellen suspendiert sind.
4. 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
5. 2 mL PBS-Arbeitslösung in jedes Teströhrchen geben und vorsichtig mischen.
6. 5 Minuten lang bei 300 x g zentrifugieren, dann den Überstand aspirieren, sodass ungefähr 50 µL Flüssigkeit zurückbleiben. Gut mischen um zugewährleisten, dass die Zellen suspendiert sind.
7. 100 µL IntraStain Reagenz B, Permeabilisierung, in jedes Teströhrchen geben. In Teströhrchen 1 ein entsprechendes Volumen fluorochromkonjugierten Antikörper, der für das zu färbende **intrazelluläre Antigen** spezifisch ist, zugeben. In Teströhrchen 2 ein entsprechendes Volumen einer passend abgestimmten fluorochromkonjugierten Negativkontrolle geben. Gut mischen um zugewährleisten, dass die Zellen suspendiert sind.
8. Im Dunkeln bei Raumtemperatur 15 Minuten lang inkubieren.
9. Schritte 5 und 6 wiederholen.

10. Das Pellet in einer für die durchflusszytometrische Analyse geeigneten Flüssigkeit resuspendieren.
11. Im Durchflusszytometer analysieren. Werden die Proben nicht sofort analysiert, können sie im Dunkeln bei 2-8 °C für bis zu 8 Stunden gelagert werden.

HINWEIS: Wenn das Zelloberflächenantigen Formalin gegenüber resistent ist, können die Zellen mit den zelloberflächen-reaktiven und intrazellulär-reaktiven Antikörpern gleichzeitig inkubiert werden. Daher nur Schritt 2 auslassen und in Schritt 7 beide Antikörper in das Teströhrchen 1 geben und beide Negativkontrollen in Teströhrchen 2.

Reaktionsmuster bei der Verwendung des IntraStain-Verfahrens

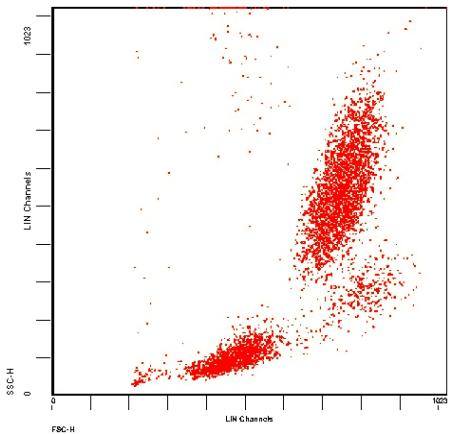


Figure 1. Forward scatter versus side scatter representation of a normal blood sample.

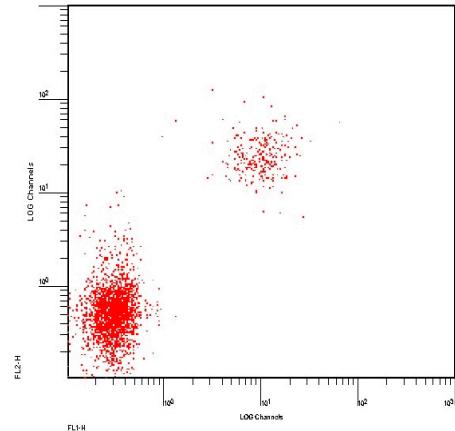


Figure 2. Surface (CD19) versus intracellular (CD79 α cy) antigen. Cells from a normal blood sample labelled with Anti-CD19/FITC, Clone HD37, code No. F 0768, and Anti-CD79 α cy/RPE, Clone HM57, code No. R 7159.

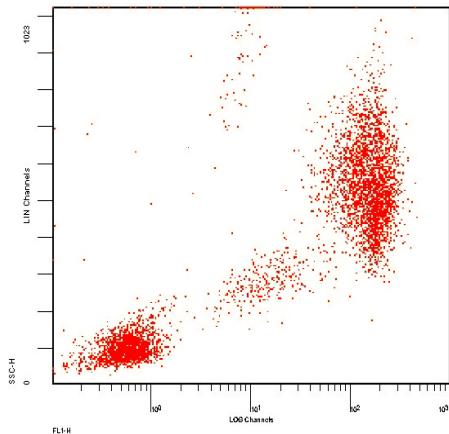


Figure 3. Intracellular antigen (MPO) versus side scatter. Cells from a normal blood sample labelled with Anti-MPO/FITC, Clone MPO-7, code No. F 0714.

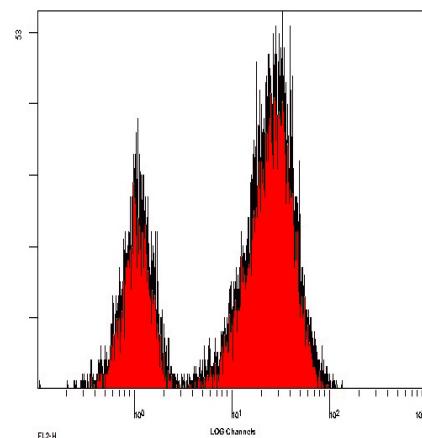


Figure 4. A mixture of 70% CEM and 30% RAJI cells (which both contain intracellular CD3) labelled with Anti-CD3/RPE, clone UCHT1, code No. R 0810.

Einschränkungen

Die meisten fluorochromkonjugierten Antikörper, die gegen intrazelluläre oder Oberflächen-Antigene gerichtet sind, sind für die gemeinsame Verwendung mit IntraStain geeignet. Einige Antigenbestimmungen sind jedoch der Fixierung mit Formaldehyd gegenüber empfindlich. Im Testverfahren sollte besonders auf die Formalinresistenz des intrazellulären Antigens geachtet werden.

References / Références / Literatur

1. Kappelmayer J, Gratama JW, Karászi É, Menéndez P, Ciudad J, Rivas R, et al. Flow cytometric detection of intracellular myeloperoxidase, CD3 and CD79a. Interaction between monoclonal antibody clones, fluorochromes and sample preparation protocols. *J Immunol Methods* 2000;242:53-65.
2. Verdier M, Jayat C, Ratinaud M-H, Troutaud D. Optimization of cell permeabilization for multiparametric flow cytometric analysis with lectin staining. *Cytometry* 2000;41:55-61.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 15°C / 30°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Manufacturer Fabricant Hersteller
IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	LOT	Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung		Harmful Nocif Gesundheitsschädlich
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten		Use by Utiliser jusque Verwendbar bis		

Produced by/ Produit par/ Hergestellt von:

DakoCytomation Denmark A/S
Produktionsvej 42
DK-2600 Glostrup
Denmark/ Danemark/ Dänemark
Tel. +45 44 85 95 00
Fax +45 44 85 95 95