

MultiMix™

Triple-Colour Reagent

Anti-Human CD3/FITC

Anti-Human CD19/RPE

Anti-Human CD45/APC

Code No./ Code/ Code-Nr. TC690

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

TC690 is intended for use in flow cytometry. The reagent is intended for use in identification of CD3-positive T-cell subsets and CD19-positive B cells, in combination with CD45-positive leucocytes.

CD3 is a pan-T-cell restricted antigen, which is a valuable marker for normal and neoplastic T cells. Antibodies to CD3 are considered essential for the initial evaluation of acute and chronic lymphoproliferative disorders (1).

CD19 is the broadest lineage-specific surface marker for B cells and it is present on the surface of virtually all B lymphocytes, including early B progenitor cells (2). CD19 expression is maintained in B-lineage cells that have undergone neoplastic transformation (3). Antibodies to CD19 are considered essential for the initial evaluation of acute and chronic lymphoproliferative disorders (1).

CD45 is one of the most abundant leucocyte cell surface glycoproteins and is expressed exclusively on cells of the haematopoietic system and their progenitors (4). Anti-CD45, together with a panel of other antibodies, is considered essential for the initial evaluation of chronic lymphoproliferative disorders and acute leukaemias (1).

Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Reagent provided

TC690 comprises the following three matched fluorescent antibodies:

Monoclonal Mouse Anti-Human CD3, Clone UCHT1, conjugated with fluorescein isothiocyanate isomer 1 (FITC).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD19, Clone HD37, conjugated with R-phycoerythrin (RPE).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD45, Clone 2D1, conjugated with allophycocyanin (APC).

The three conjugates in TC690 have been produced from purified monoclonal mouse antibodies of isotypes IgG1, kappa (Anti-CD3), IgG1, kappa (Anti-CD19) and IgG1, kappa (Anti-CD45). TC690 is provided in liquid form in buffer containing 1% bovine serum albumin (BSA) and 15 mmol/L NaN₃, pH 7.2. Each vial contains 50 tests (20 µL of conjugate for up to 10⁶ leucocytes from normal human peripheral blood).

Specificity

Anti-CD3, UCHT1, was included in the First and Third International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens, and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD3 (5). Anti-CD3, UCHT1, reacts with the ε-chain of CD3 (6).

Anti-CD19, HD37, was included in the Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD19 (7, 8). Anti-CD19, HD37, labels human B cells in peripheral blood, bone marrow and other tissues. Additionally, B-cell lymphoproliferative disorders gave positive reactions with the antibody, i.e. acute lymphoblastic leukaemia, chronic lymphocytic leukaemia, hairy cell leukaemia, lymphoblastic lymphoma (Burkitt type), centroblastic/centrocytic lymphoma, and diffuse non-Hodgkin's lymphoma (7, 8). Anti-CD19, HD37, inhibits anti-Ig-induced B-cell activation and proliferation (2).

Anti-CD45, 2D1, was included in the Third International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD45 (9).

Precautions

1. For professional users.
2. 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.
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 reagent is suspected, contact our Technical Services.

Staining procedure

1. Transfer 100 µL of anticoagulated (EDTA) blood to a 12 mm x 75 mm polystyrene test tube.
2. Add 20 µL of TC690 and mix gently by using a vortex mixer.
3. Incubate the tube in the dark at 2-8 °C for 30 minutes or at room temperature (20-25 °C) for 15-30 minutes.
4. Add 100 µL of Uti-Lyse™ Reagent A (Dako code No. S3325) to the tube and mix gently by using a vortex mixer. Incubate the tube for 10 minutes at room temperature in the dark.
5. Add 1 mL of Uti-Lyse™ Reagent B (Dako code No. S3325) to the tube and mix gently by using a vortex mixer. Incubate the tube for 10 minutes at room temperature in the dark.
6. Centrifuge the tube at 300 x g for 5 minutes. Gently aspirate the supernatant and discard it leaving approximately 50 µL of fluid in the tube.
7. Add 2 mL of PBS (Dako code No. S3024) to the tube and resuspend the cells by using a vortex mixer.
8. Repeat step 6.
9. Resuspend the cells in an appropriate fluid for flow cytometry, e.g. 0.3 mL PBS.
10. Analyse the sample on a flow cytometer or store it in the dark at 2-8 °C until analysis. Samples should be analysed within 24 hours after staining.

Note that fluorochrome conjugates are light sensitive, and samples should be protected from light during the staining procedure and until the analysis.

Procedural notes

Step 1: It is optional to include a suitable positive and negative control sample with each run for reagent and preparation control.

Step 2: The volume of conjugate recommended is a guideline only. Optimal staining conditions may vary depending on specimen and preparation method and should be determined by each individual laboratory.

It is optional to include a control reagent test tube. The control reagent should match the conjugated antibody reagent. The recommended Triple-Colour Control Reagent for TC690 is Dako code No. X0978.

Steps 4 and 5: If another cell-lysing reagent is used, please follow the recommendations for that reagent. Note that if the alternative lysing reagent does not contain fixative, e.g. Dako EasyLyse™, code No. S2364, the PBS in step 9 should contain 1% paraformaldehyde or be analysed within the time frame recommended for the lysing reagent.

Step 10: Abnormal numbers of cells expressing the target antigen or cells showing aberrant expression levels of the antigen can be expected in some disease states. This may result in an altered pattern of staining. It is important to understand the normal expression pattern of an antigen and its relationship to the expression of other relevant antigens in order to perform appropriate analysis.

Multicolour reagents are preferable to single-colour reagents for the comprehensive analysis of flow cytometry specimens. The correct use of colour compensation is particularly important in multicolour analysis. The combination of FITC, RPE and APC is especially easy to work with since the emission spectra of these fluorochromes show minimum spectral overlap.

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation en diagnostic *in vitro*.

Le TC690 est destiné à être utilisé en cytométrie en flux. Le réactif est destiné à être utilisé pour l'identification des sous-populations de lymphocytes T CD3+ et des lymphocytes B CD19+, en association avec les leucocytes CD45+.

Le CD3 est un antigène spécifique « pan-T ». C'est un marqueur précieux des lymphocytes T sains et néoplasiques. Les anticorps anti-CD3 sont considérés comme essentiels à l'évaluation initiale des syndromes lymphoprolifératifs aigus et chroniques (1).

Le CD19 est le plus large marqueur de surface spécifique à la lignée des lymphocytes B ; il est présent sur la surface de pratiquement tous les lymphocytes B, y compris les cellules progénitrices B précoces (2). L'expression du CD19 est préservée dans les cellules de la lignée B ayant subi une transformation néoplasique (3). Les anticorps dirigés contre le CD19 sont considérés comme essentiels à l'évaluation initiale des syndromes lymphoprolifératifs aigus et chroniques (1).

Le CD45 est l'une des glycoprotéines de la surface cellulaire des leucocytes les plus abondantes ; il est exprimé exclusivement sur les cellules du système hématopoïétique et sur leurs progéniteurs (4). L'anticorps anti-CD45, ajouté à un panel d'autres anticorps, est considéré comme essentiel à l'évaluation initiale des syndromes lymphoprolifératifs chroniques et des leucémies aiguës (1).

Les résultats doivent être interprétés par un pathologiste qualifié et tenir compte des antécédents cliniques du patient ainsi que d'autres tests diagnostiques.

Réactifs fournis

Le TC690 comprend les trois anticorps fluorescents suivants :

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD3, Clone UCHT1, conjugué à l'isomère 1 de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC).

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD19, Clone HD37, conjugué à la R-phycoérythrine (RPE).

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD45, Clone 2D1, conjugué à l'allophycocyanine (APC).

Les trois conjugués du TC690 ont été préparés à partir d'anticorps monoclonaux de souris purifiés d'isotypes IgG1, kappa (anti-CD3), IgG1, kappa (anti-CD19) et IgG1, kappa (anti-CD45). Le TC690 est fourni sous forme liquide dans un tampon contenant 1 % d'albumine de sérum bovin (BSA) et 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN₃) de pH 7,2. Chaque flacon contient suffisamment de conjugué pour 50 tests (20 µL de conjugué pour 10⁶ leucocytes au maximum issu du sang périphérique humain d'un individu sain).

Spécificité

L'anticorps anti-CD3, UCHT1, a été évoqué lors des First and Third International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Première et troisième conférences et ateliers internationaux sur les antigènes de différenciation des leucocytes humains [HLDA]). Les études réalisées par plusieurs laboratoires ont confirmé sa réactivité au CD3 (5). L'anticorps anti-CD3, UCHT1, réagit avec la chaîne ε du CD3 (6).

L'anticorps anti-CD19, Clone HD37, a été évoqué lors des Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Seconde, troisième, quatrième et cinquième conférences et ateliers internationaux sur les antigènes de différenciation des leucocytes humains [HLDA]). Les études réalisées par plusieurs laboratoires ont confirmé sa réactivité au CD19 (7, 8). L'anticorps anti-CD19, HD37, marque les lymphocytes B humains présents dans le sang périphérique, la moelle osseuse et d'autres tissus. De plus, des réactions positives ont été observées avec l'anticorps dans des syndromes lymphoprolifératifs à cellules B, c.-à-d. la leucémie lymphoblastique aiguë, la leucémie lymphoïde chronique, la leucémie à tricholeucocytes, le lymphome lymphoblastique (de type Burkitt), le lymphome centroblastique/centrocytaire et le lymphome non Hodgkinien diffus (7, 8). L'anticorps anti-CD19, HD37, inhibe l'activation et la prolifération des lymphocytes B induites par les anti-Ig (2).

L'anticorps anti-CD45, 2D1, a été évoqué lors de la Third International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Troisième conférence et atelier internationaux sur les antigènes de différenciation des leucocytes humains [HLDA]). Les études réalisées par plusieurs laboratoires ont confirmé sa réactivité au CD45 (9).

Précautions

1. Réservé aux utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), produit chimique hautement toxique sous 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.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.

Conservation

Conserver dans l'obscurité entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée 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'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons du patient. En cas de coloration inattendue, ne pouvant être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et de suspicion d'un problème avec le réactif, contacter notre service technique.

Procédure de coloration

1. Transférer 100 µL de sang non coagulé (EDTA) dans un tube à essai en polystyrène de 12 mm x 75 mm.
2. Ajouter 20 µL de TC690 et mélanger doucement à l'aide d'un agitateur vortex.
3. Incuber le tube dans l'obscurité entre 2 et 8 °C pendant 30 minutes ou à température ambiante (20–25 °C) pendant 15 à 30 minutes.
4. Ajouter 100 µL de Réactif A Uti-Lyse™ (réf. Dako S3325) dans le tube et mélanger doucement à l'aide d'un agitateur vortex. Incuber le tube dans l'obscurité pendant 10 minutes à température ambiante.
5. Ajouter 1 mL de Réactif B Uti-Lyse™ (réf. Dako S3325) dans le tube et mélanger doucement à l'aide d'un agitateur vortex. Incuber le tube dans l'obscurité pendant 10 minutes à température ambiante.
6. Centrifuger le tube à 300 g pendant 5 minutes. Aspirer doucement le surnageant et éliminer en laissant environ 50 µL de liquide dans le tube.
7. Ajouter 2 mL de PBS (réf. Dako S3024) dans le tube et remettre les cellules en suspension à l'aide d'un agitateur vortex.
8. Répéter l'étape 6.
9. Remettre les cellules en suspension dans un liquide adapté à la cytométrie en flux, par exemple 0,3 mL de PBS.
10. Analyser l'échantillon sur un cytomètre en flux ou le conserver dans l'obscurité entre 2 et 8 °C jusqu'à l'analyse. Analyser les échantillons dans les 24 heures qui suivent la coloration.

Noter que les conjugués fluorochromes sont photosensibles. Les échantillons doivent donc être protégés de la lumière pendant la procédure de coloration et jusqu'à l'analyse.

Remarques sur la procédure

Étape 1 : L'utilisation d'un échantillon de contrôle positif et négatif approprié à chaque cycle pour contrôler les réactifs et la préparation est facultative.

Étape 2 : Le volume de conjugué n'est donné qu'à titre indicatif. Les conditions de coloration optimales peuvent varier en fonction de l'échantillon et de la méthode de préparation, et doivent être déterminées au cas par cas par chaque laboratoire.

L'utilisation d'un tube à essai de réactif de contrôle est facultative. Le réactif de contrôle doit correspondre au réactif anticorps conjugué. Le réactif de contrôle tricolore recommandé pour le TC690 est le produit de Dako réf. X0978.

Étapes 4 et 5 : Si un autre réactif de lyse cellulaire est utilisé, suivre les recommandations fournies pour ce réactif. Noter que si le réactif de lyse utilisé ne contient pas de fixateur comme l'EasyLyse™ de Dako, réf. S2364, le PBS de l'étape 9 doit contenir 1 % de paraformaldéhyde ou être analysé dans les délais recommandés pour le réactif de lyse.

Étape 10 : Pour certaines maladies, on peut s'attendre à obtenir des nombres anormaux de cellules exprimant l'antigène cible ou des niveaux aberrants d'expression de l'antigène. Ceci peut modifier le profil de coloration. Afin d'effectuer des analyses appropriées, il est important de comprendre le profil d'expression normal de l'antigène et ses relations avec l'expression d'autres antigènes pertinents.

Les réactifs multicolores sont préférables aux réactifs unicolores pour l'analyse complète des échantillons de cytométrie en flux. L'utilisation correcte de la compensation de couleur est particulièrement importante dans les analyses multicolores. La combinaison du FITC, de la RPE et de l'APC est particulièrement facile à utiliser car le chevauchement des spectres d'émission de ces fluorochromes est minime.

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

TC690 dient zu Laborzwecken anhand durchflusszytometrischer Testverfahren. Das Reagenz wird zur Identifizierung von CD3-positiven Untergruppen von T-Zellen und CD19-positiven B-Zellen, in Kombination mit CD45-positiven Leukozyten, verwendet.

CD3 ist ein auf Pan-T-Zellen beschränktes Antigen, das sich als nützlicher Marker für normale und neoplastische T-Zellen erwiesen hat. Antikörper gegen CD3 gelten als wichtig für die Erstuntersuchung akuter und chronischer lymphoproliferativer Erkrankungen (1).

CD19 ist der umfassendste abstammungsspezifische Oberflächenmarker für B-Zellen, der auf nahezu allen B-Lymphozyten einschließlich früher Vorläufer-B-Zellen vorkommt (2). In B-Zellen, die eine neoplastische Transformation durchlaufen haben, bleibt die CD19 Expression erhalten (3). Antikörper gegen CD19 gelten als wichtig bei der Erstuntersuchung akuter und chronischer lymphoproliferativer Erkrankungen (1).

Bei CD45 handelt es sich um eines der am häufigsten vorkommenden Leukozyten-Zelloberflächen-Glykoproteine, das ausschließlich von Zellen des hämatopoetischen Systems und ihren Vorläufern exprimiert wird (4). Anti-CD45 gilt zusammen mit einem Panel weiterer Antikörper als unentbehrlich für Erstuntersuchungen chronischer lymphoproliferativer Erkrankungen und akuter Leukämien (1).

Die Ergebnisse müssen von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten ausgewertet werden.

Mitgelieferte Reagenzien

TC690 enthält folgende drei aufeinander abgestimmte fluoreszierende Antikörper:

Monoclonal Mouse Anti-Human CD3, Clone UCHT1, konjugiert mit Fluoreszein-Isothiocyanat-Isomer 1 (FITC).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD19, Clone HD37, konjugiert mit R-Phycoerythrin (RPE).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD45, Clone 2D1, konjugiert mit Allophycocyanin (APC).

Die drei in TC690 enthaltenen Konjugate wurden aus gereinigten monoklonalen Mausantikörpern der Isotypen IgG1, Kappa (Anti-CD3), IgG1, Kappa (Anti-CD19) und IgG1, Kappa (Anti-CD45) hergestellt. TC690 wird in flüssiger Form in einem Puffer mit 1 % Rinderserum-Albumin (BSA) und 15 mmol/L NaN₃, pH 7,2 geliefert. Das Konjugat in jedem Fläschchen ist ausreichend für 50 Tests (20 µL Konjugat für bis zu 10⁶ Leukozyten aus normalem humanem peripherem Blut).

Spezifität

Anti-CD3, UCHT1 wurde bei den First and Third International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (1. und 3. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten differenzierende Antigene) untersucht; seine Reaktivität mit CD3 wurde in Studien einer Reihe von Labors bestätigt (5). Anti-CD3, UCHT1 reagiert mit der α -Kette von CD3 (6).

Anti-CD19, HD37 wurde bei den Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (2., 3., 4. und 5. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten differenzierende Antigene) untersucht, und seine Reaktivität mit CD19 wurde in Studien einer Reihe von Labors bestätigt (7, 8). Anti-CD19, HD37 markiert humane B-Zellen in peripherem Blut, Knochenmark und anderen Geweben. Außerdem zeigten lymphoproliferative Erkrankungen der B-Zellen mit dem Antikörper positive Reaktionen, z. B. bei akuter lymphoblastischer bzw. chronisch lymphatischer Leukämie, Haarzellenleukämie, beim lymphoblastischen (Typ Burkitt) und Zentroblasten-/Zentrozyten-Lymphom sowie beim diffusen Non-Hodgkin-Lymphom (7, 8). Anti-CD19, HD37, hemmt die Anti-Ig-induzierte B-Zell-Aktivierung und Proliferation (2).

Anti-CD45, 2D1 wurde bei dem/der Third International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (3. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche leukozytendifferenzierende Antigene) untersucht, und seine Reaktivität mit CD45 wurde in Studien verschiedener Labors bestätigt (9).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von Natriumazid können auch in Konzentrationen, die nicht als gefährlich klassifiziert sind, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.

Aufbewahrung

Bei 2–8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien nicht entsprechend den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen die Bedingungen vom Anwender geprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Reagenz hindeutet, ist unser technischer Kundendienst zu verständigen.

Färbeverfahren

1. 100 µL antikoagulierte (EDTA) Blut in ein 12 mm x 75 mm Polystyrol-Teströhrchen geben.
2. 20 µL TC690 dazugeben und mit einem Vortexer vorsichtig mischen.
3. 30 Minuten im Dunkeln bei 2–8 °C oder 15–30 Minuten bei Raumtemperatur (20–25 °C) inkubieren.
4. 100 µL Uti-Lyse™ Reagent A (Dako Code-Nr. S3325) zugeben und mit einem Vortexer vorsichtig mischen. Teströhrchen 10 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubieren.
5. 1 mL Uti-Lyse™ Reagent B (Dako Code-Nr. S3325) dazugeben und mit einem Vortexer vorsichtig mischen. Teströhrchen 10 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubieren.
6. 5 Minuten bei 300 x g zentrifugieren. Den Überstand vorsichtig absaugen und entsorgen, dabei etwa 50 µL Flüssigkeit übriglassen.
7. 2 mL PBS (Dako Code-Nr. S3024) dazugeben und die Zellen mit einem Vortexer resuspendieren.
8. Schritt 6 wiederholen.

9. Zellen in einer geeigneten Flüssigkeit, z.B. 0,3 mL PBS, für die Durchflusszytometrie resuspendieren.
10. Die Probe auf einem Durchflusszytometer analysieren oder bis zur Analyse bei 2–8 °C im Dunkeln aufbewahren. Die Proben innerhalb von 24 Stunden nach dem Färben analysieren.

Bitte beachten, dass Fluorochrom-Konjugate lichtempfindlich sind und die Proben während des Färbeverfahrens und bis zur Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

Hinweise

Schritt 1: Als Kontrolle für das Reagenz und das Präparat kann bei jedem Durchlauf eine geeignete positive und negative Kontrollprobe mitlaufen.

Schritt 2: Die empfohlene Konjugatmenge gilt nur als Richtlinie. Optimale Färbungsbedingungen können je nach Probe und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst bestimmt werden.

Es kann auch ein Teströhrchen mit einem Kontrollreagenz mitgefärbt werden. Das Kontrollreagenz sollte dem konjugierten Antikörperreagenz entsprechen. Für TC690 wird Dako Code-Nr. X0978 als dreifarbiges Kontrollreagenz empfohlen.

Schritte 4 und 5: Wird ein anderes Reagenz für die Zellysierung verwendet, bitte die Empfehlungen für dieses Reagenz befolgen. Falls dieses Lysierungsreagenz kein Fixiermittel wie Dako EasyLyse™, Code-Nr. S2364 enthält, sollte die PBS in Schritt 9 1 % Paraformaldehyd enthalten, es sei denn, die Probe wird innerhalb des für das Lysereagenz empfohlenen Zeitrahmens analysiert.

Schritt 10: Bei einigen Krankheitsbildern sind bei den das Zielantigen exprimierenden Zellen anomale Mengen oder abweichende Antigen-Expressionsgrade zu erwarten. Dies kann zu einem veränderten Färbemuster führen. Um entsprechende Analysen durchführen zu können, ist es wichtig, das normale Expressionsmuster der Antigene und deren Verhältnis zur Expression anderer relevanter Antigene zu kennen.

Für die umfangreiche Analyse von Durchflusszytometrieproben sind mehrfarbige Reagenzien einfarbigen vorzuziehen. Die korrekte Durchführung des Farbausgleichs ist bei der Mehrfarben-Analyse von besonderer Bedeutung. Die Kombination aus FITC, RPE und APC ist besonders einfach in der Anwendung, da es bei den Emissionsspektren dieser Fluorochrome nur zu minimalen Überschneidungen kommt.

References/ Références/ Literatur

1. Braylan RC, Orfao A, Borowitz MJ, Davis BH. Optimal number of reagents required to evaluate hematolymphoid neoplasias: results of an international consensus meeting. *Cytometry* 2001;46:23-7.
2. Pezzutto A, Dörken B, Rabinovitch PS, Ledbetter JA, Moldenhauer G, Clark EA. CD19 monoclonal antibody HD37 inhibits anti-immunoglobulin-induced B cell activation and proliferation. *J Immunol* 1987;138:2793-9.
3. Sato S, Tedder TF. BC3. CD19 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. 133-5.
4. Leong AS-Y, Cooper K, Leong FJW-M. *Manual of diagnostic antibodies for immunohistology*. London: Greenwich Medical Media Ltd.; 2003. p. 121-4.
5. McMichael AJ, Gotch FM. T-cell antigens: new and previously defined clusters. In: McMichael AJ, Beverley PCL, Cobbold S, Crumpton MJ, Gilks W, Gotch FM, et al., editors. *Leucocyte typing III. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 3rd International Workshop and Conference*; 1986 Sept 21-26; Oxford, England. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1987. p. 31-62.
6. Tunncliffe A, Olsson C, Traunecker A, Krissansen GW, Karjalainen K, de la Hera A. T3.2. The majority of CD3 epitopes are conferred by the epsilon chain. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H, et al., editors. *Leucocyte 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. 295-6.
7. Nadler LM. B cell/leukemia panel workshop: summary and comments. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, editors. *Leucocyte typing II. Proceedings of the 2nd International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens*; 1984 Sept 17-20; Boston, USA. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag; 1986. Volume 2. p. 3-43.
8. Mason DY, Ladyman H, Gatter KC. Immunohistochemical analysis of monoclonal anti-B cell antibodies. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, editors. *Leucocyte typing II. Proceedings of the 2nd International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens*; 1984 Sept 17-20; Boston, USA. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag; 1986. Volume 2. p. 245-55.
9. Cobbold S, Hale G, Waldmann H. Non-lineage, LFA-1 family, and leucocyte common antigens: new and previously defined clusters. In: McMichael AJ, Beverley PCL, Cobbold S, Crumpton MJ, Gilks W, Gotch FM, et al., editors. *Leucocyte typing III. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 3rd International Workshop and Conference*; 1986 Sep 21-26; Oxford, England. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1987. p. 788-803.

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) Vor Sonnenlicht schützen (siehe Abschnitt Aufbewahrung)	 Manufacturer Fabricant Hersteller
 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	 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