

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
CD1a/PerCP-Cy5.5
Clone NA1/34**

Code PR710

ENGLISH

Intended use	For in vitro diagnostic use. Monoclonal Mouse Anti-Human CD1a/PerCP-Cy5.5, Clone NA1/34, is intended for use in flow cytometry. Anti-CD1a, clone NA 1/34, is intended for use in the identification of cells expressing CD1a. Antibodies to CD1a may be a useful tool for identification of Langerhans' cell histiocytosis and for the classification of thymomas and malignancies of T-cell precursors (1) together with a panel of other antibodies (2). 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	R4 (3).
Summary and explanation	The human CD1 locus contains five genes, CD1A-E. CD1 molecules consist of glycosylated polypeptide α chains that span the cell membrane and are non-covalent associated with β 2-microglobulin (4). Anti-CD1a recognizes a heavy chain molecule of 49 kDa. This antigen is expressed strongly on cortical thymocytes and on a variety of antigen-presenting cells including Langerhans' cells and interdigitating dendritic cells. CD1a is not expressed on early thymocytes and is absent on mature peripheral blood T cells but intracytoplasmic expression is detected on activated T lymphocytes (1, 3, 4).
Reagent provided	The Anti-CD1a conjugate, PR710, 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 NaN_3 , pH 7.2. Each vial contains 100 tests (5 μL conjugate /test) of up to 10^6 leucocytes from normal human peripheral blood. <u>Isotype:</u> IgG2a, kappa. <u>Conjugate concentration mg/L:</u> See label on vial. It is recommended to use a non-reactive monoclonal antibody of the same isotype and conjugated to PerCP-Cy5.5 as a negative control reagent.
Immunogen	Human thymocytes (5).
Specificity	Anti-CD1a, NA1/34, was included in the First, Second, Third and Fourth International Workshop and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens, and studies by different laboratories confirmed its reactivity with the CD1a antigen (3).
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> 1. For in vitro diagnostic use. 2. For professional users. 3. 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. 4. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. 5. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. 6. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.
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 Dako Technical Support.
Staining procedure	<ol style="list-style-type: none"> 1. Transfer 100 μL of anticoagulated blood to a 12 mm x 75 mm polystyrene test tube. 2. Add 5 μL of fluorochrome-conjugated anti-CD1a and mix gently by using a vortex mixer. 3. Incubate the tube in the dark at 2-8 °C for 30 minutes. 4. Add 2 mL of EasyLyse™ lysing reagent (Code S2364, diluted 20 times) to the tube and immediately mix gently using a vortex mixer. Incubate the tube for 15 minutes at room temperature in the dark. 5. 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. 6. Add 2 mL of PBS (Code S3024) to the tube and resuspend the cells using a vortex mixer. 7. Repeat step 5. 8. Resuspend the cells in an appropriate fluid for flow cytometry, e.g. 0.4 mL PBS. 9. Analyse the sample on a flow cytometer.

Procedural notes	The recommended anticoagulant is EDTA. Heparin and citrate may be used but occasionally give more debris. 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.
Product-specific limitations	It has been observed that RPE-Cy5-conjugates and PerCP-Cy5.5-conjugates may bind to monocytes, resulting in background staining (6, 7).

FRANÇAIS

Utilisation prévue	Pour utilisation diagnostique in vitro. Le Monoclonal Mouse Anti-Human CD1a/PerCP-Cy5.5, Clone NA1/34, est destiné à être utilisé en cytométrie de flux. L'anticorps anti-CD1a, clone NA1/34, est destiné à être utilisé pour l'identification des cellules exprimant le CD1a. Les anticorps anti-CD1a peuvent constituer un outil utile pour l'identification de l'histiocytose langerhansienne et pour la classification des thymomes et des tumeurs malignes des précurseurs des lymphocytes T (1) avec un panel d'autres anticorps (2). Les résultats doivent être interprétés par un professionnel qualifié et tenir compte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques.
Synonymes de l'antigène	R4 (3).
Résumé et explication	Le locus du CD1 humain contient cinq gènes, CD1A-E. Les molécules CD1 sont constituées de chaînes α polypeptidiques glycosylées qui recouvrent la membrane cellulaire. Elles sont liées de manière non covalente à la β 2-microglobuline (4). L'anticorps Anti-CD1a reconnaît une molécule de chaîne lourde de 49 kDa. Cet antigène est fortement exprimé sur les thymocytes corticaux et sur diverses cellules présentant des antigènes, dont les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques interdigitantes. Le CD1a n'est pas exprimé sur les thymocytes précoces et il est absent sur les lymphocytes T issus de sang périphérique mature. Cependant, l'expression intracytoplasmique est détectée sur les lymphocytes T activés (1, 3, 4).
Réactif fourni	Le conjugué anti-CD1a, PR710, a été préparé à partir d'un anticorps monoclonal de souris purifié. Le conjugué est fourni sous forme liquide dans un tampon contenant 1% d'albumine de sérum bovin (BSA) et 15 mmol/l d'azide de sodium (NaN_3) d'un pH de 7,2. Chaque flacon contient du conjugué pour 100 tests (5 μL de conjugué/test) de 10^6 leucocytes au maximum à partir de sang périphérique humain sain. <u>Isotype</u> : IgG2a, kappa. <u>Concentration des conjugués en mg/L</u> : Voir l'étiquette sur le flacon. Il est recommandé d'utiliser un anticorps monoclonal non réactif du même isotype et conjugué à la PerCP-Cy5.5 comme réactif de contrôle négatif.
Immunogène	Thymocytes humains (5).
Spécificité	L'anticorps anti-CD1a, NA1/34, a été inclus lors des First, Second, Third and Fourth International Workshop and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Première, Seconde, Troisième et Quatrième Conférences et Ateliers Internationaux sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains (HLDA)). Des études réalisées par différents laboratoires ont confirmé sa réactivité avec l'antigène du CD1a (3).
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pour utilisation diagnostique in vitro. 2. Pour utilisateurs professionnels. 3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), produit chimique hautement toxique dans 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. 4. Comme avec tout produit d'origine biologique, respecter les procédures de manipulation appropriées. 5. Porter un équipement de protection individuelle approprié pour éviter tout contact avec les yeux et la peau. 6. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales, nationales et européennes.
Conservation	Conserver à l'abri de la lumière entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée 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'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par des différences dans les procédures du laboratoire et qu'un problème lié à l'anticorps est suspecté, contacter l'assistance technique de Dako.
Procédure de coloration	<ol style="list-style-type: none"> 1. Transférer 100 μL de sang non coagulé dans un tube à essai en polystyrène de 12 mm x 75 mm. 2. Ajouter 5 μL d'anticorps anti-CD1a conjugué à un fluorochrome et mélanger doucement à l'aide d'un mélangeur Vortex. 3. Incuber le tube dans l'obscurité à 2-8 °C pendant 30 minutes. 4. Ajouter 2 mL de réactif de lyse EasyLyse™ (réf. S2364, dilué 20 fois) dans le tube et mélanger immédiatement à l'aide d'un mélangeur Vortex. Incuber le tube dans l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante. 5. Centrifuger le tube à 300 g pendant 5 minutes. Aspirer doucement le surnageant et l'éliminer en laissant environ 50 μL de liquide dans le tube.

6. Ajouter 2 mL de PBS (réf. S3024) dans le tube et remettre les cellules en suspension à l'aide d'un mélangeur Vortex.
7. Répéter l'étape 5.
8. Remettre les cellules en suspension dans un liquide approprié pour la cytométrie en flux, ex. : 0,4 mL de PBS.
9. Analyser l'échantillon à l'aide d'un cytomètre en flux.

Remarques sur la procédure

L'anticoagulant recommandé est l'EDTA. L'héparine et le citrate peuvent être utilisés, mais ils produisent parfois plus de débris. Il est recommandé d'inclure un échantillon de contrôle positif et négatif approprié avec chaque cycle en tant que contrôle de réactif et de préparation.

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

Limitations spécifiques du produit

On a constaté que des conjugués à la RPE-Cy5 et des conjugués à la PerP-Cy5.5 peuvent se lier à des monocytes, entraînant une coloration de bruit de fond (6, 7).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD1a/PerCP-Cy5.5, Clone NA1/34, ist zur Verwendung in der Durchflusszytometrie bestimmt. Anti-CD1a, Clone NA 1/34, dient zur Identifizierung von Zellen, die CD1a exprimieren. Antikörper gegen CD1a können ein wertvolles Hilfsmittel bei der Diagnose einer Histiozytose der Langerhans'schen Zellen sowie der Klassifikation von Thymomen und Malignitäten der T-Vorläuferzellen darstellen (1) – zusammen mit einem Panel weiterer Antikörper (2). Die Ergebnisse müssen von einem qualifizierten Experten unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten ausgewertet werden

Synonyme Bezeichnungen des Antigens

R4 (3).

Zusammenfassung und Erklärung

Der humane Locus CD1 umfasst fünf Gene, CD1A-E. CD1-Moleküle bestehen aus glykosylierten Polypeptid- α -ketten, die sich durch die Zellmembran ziehen und mit β 2-Mikroglobulin nichtkovalent verbunden sind (4).

Anti-CD1a erkennt ein schweres Kettenmolekül von 49 kDa. Dieses Antigen wird stark auf kortikalen Thymozyten und einer Vielzahl von antigenbildenden Zellen, einschließlich Langerhans-Zellen und interdigitierende dendritische Zellen, exprimiert. CD1a wird nicht auf frühen Thymozyten exprimiert und ist bei älteren T-Zellen im peripheren Blut nicht vorhanden, jedoch ist die intrazytoplasmische Expression auf aktivierten T-Lymphozyten nachgewiesen (1, 3, 4).

Geliefertes Reagenz

Das Anti-CD1a-Konjugat PR710 wurde aus einem gereinigten monoklonalen Mausantikörper hergestellt. Das Konjugat wird in flüssiger Form in einem Puffer mit 1% Rinderserum-Albumin (BSA) und 15 mmol/L NaN_3 , pH 7.2 geliefert. Jeder Behälter enthält 100 Tests (5 μL Konjugat/Test) für bis zu 10^6 Leukozyten aus normalem humanem peripherem Blut.

Isotyp: IgG2a, Kappa. Konjugatkonzentration mg/L: Siehe Behälteretikett.

Es wird empfohlen, einen nichtreaktiven monoklonalen Antikörper desselben Isotyps zu verwenden, der mit PerCP-Cy5.5 als Negativkontrollreagenz konjugiert wurde.

Immunogen

Humane Thymozyten (5).

Spezifität

Anti-CD1a, NA1/34, wurde bei den First, Second, Third and Fourth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (1., 2., 3. und 4. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten differenzierende Antigene) untersucht; seine Reaktivität mit dem CD1a-Antigen wurde in Studien von verschiedenen Labors bestätigt (3).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. Für Fachpersonal.
3. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN_3), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natriumazid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metallazid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metallazid-Anreicherung zu vermeiden.
4. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
5. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
6. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, staatlichen und EU-rechtlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2-8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Behälter aufgedruckten Verfallsdatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer überprüft werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produkts. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientengewebeprobe mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Färbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann, und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist Kontakt mit dem technischen Kundendienst von Dako aufzunehmen.

Färbeverfahren

1. 100 µL antikoaguliertes Blut in ein 12 mm x 75 mm Polystyrol-Teströhrchen geben.
2. 5 µL Fluorochrom-konjugiertes Anti-CD1a dazugeben und mit einem Vortex-Mischer vorsichtig mischen.
3. Das Röhrchen im Dunkeln bei 2-8 °C 30 Minuten inkubieren.
4. 2 mL EasyLyse™ Lysierungsreagenz (Code-Nr. S2364, 20fach verdünnt) in das Röhrchen dazugeben und sofort mit einem Vortex-Mischer vorsichtig mischen. Teströhrchen 15 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubieren.
2. Das Röhrchen 5 Minuten bei 300 x g zentrifugieren. Den Überstand vorsichtig absaugen und entsorgen, dabei etwa 50 µL Flüssigkeit übriglassen.
6. 2 mL PBS (Code-Nr. S3024) in das Röhrchen dazugeben und die Zellen mit einem Vortex-Mischer resuspendieren.
7. Schritt 5 wiederholen.
8. Die Zellen in einer geeigneten Flüssigkeit, z. B. 0.4 mL PBS, für die Durchflusszytometrie resuspendieren.
9. Die Probe auf einem Durchflusszytometer analysieren.

Verfahrensanweisung

Der empfohlene Gerinnungshemmer ist EDTA. Heparin oder Zitrat können auch verwendet werden, allerdings entstehen dadurch mehr Zellrückstände. Es wird empfohlen, als Kontrolle für das Reagenz und das Präparat bei jedem Testdurchlauf eine geeignete Positiv- und Negativkontrollprobe mitlaufen zu lassen.

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










Produktspezifische Beschränkungen

Es wurde eine mögliche Bindung von RPE-Cy5-Konjugaten und PerCP-Cy5.5-Konjugaten an Monozyten, die zu einer Hintergrundfärbung führen kann, beschrieben (6, 7).

References/ Bibliographie/ Literaturnachweise

1. Leong AS-Y, Cooper K, Leong FJW-M. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Oxford University Press; 2003. p. 59-60.
2. Wood, B. L., Arroz, M., Barnett, D., DiGiuseppe, J., Greig, B., Kussick, S. J., Oldaker, T., Shenkin, M., Stone, E. and Wallace, P. (2007), 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: Optimal reagents and reporting for the flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. *Cytometry*, 72B: S14–S22
3. Fainboim L, Salamone MC. CD guide. CD1a-e. 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. 747-8.
4. Fainboim L, Salamone MC. TC2. CD1 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. 33-7.
5. McMichael AJ, Pilch JR, Galfré G, Mason DY, Fabre JW, Milstein C. A human thymocyte antigen defined by a hybrid myeloma monoclonal antibody. *Eur J Immunol* 1979;9:205-10.
6. van Vugt MJ, van den Herik-Oudijk IE, van de Winkel JGJ. Binding of PE-CY5 conjugates to the human high-affinity receptor for IgG (CD64). *Blood* 1996;88:2358-61.
7. Shapiro HM. *Practical Flow Cytometry*, John Wiley and Sons Inc.; 2003. 4th ed. p. 337.

Explanation of symbols / Explication des symboles / Erläuterung der Symbole

 REF	Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer	 2°C - 8°C	Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich		Use by Utiliser avant Verwendbar bis
 IVD	In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum		Keep away from sunlight (consult storage section) Conserver à l'abri de la lumière (voir la section Conservation) Vor Sonnenlicht schützen (siehe Abschnitt Aufbewahrung)		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 LOT	Batch code Réf. du lot Chargenbezeichnung	 EC REP	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