

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
CD7/PerCP-Cy5.5
Clone CBC.37**

Code PR711

ENGLISH

Intended use	For in vitro diagnostic use. Monoclonal Mouse Anti-Human CD7/PerCP-Cy5.5, Clone CBC.37, is intended for use in flow cytometry. Anti-CD7, Clone CBC.37, is intended for use in the identification of cells expressing CD7. Anti-CD7 is considered essential for the initial evaluation of T cell acute lymphoblastic leukemias (T-ALL) and T cell chronic leukemias (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	gp40 (3).
Summary and explanation	CD7 is a membrane-bound 40 kDa glycoprotein expressed on thymocytes, mature T cells, a large majority of natural killer cells, pluripotent hematopoietic stem cells, and progenitor cells of lymphoid and myeloid cells (3-6). CD7 is one of the earliest T-cell-specific antigens to be expressed in lymphocytes, and the only early marker to persist throughout differentiation (5). CD7 is expressed on most immature, common thymocytic and mature T-ALL, T-cell prolymphocytic leukemias, adult T-cell leukemias, large granular leukemias and some cutaneous T-cell leukemias/lymphomas (1, 7). CD7 is also expressed on special cases of acute myeloid leukemia of hematopoietic stem cell origin (8). CD7-deficient T cells have been observed in severe combined immunodeficiency (SCID) and rheumatoid arthritis (3, 7).
Reagent provided	The Anti-CD7 conjugate, PR711, 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> IgG2b, 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	CEM T-cell line (ATCC CCL-199), a T-lymphoblastoid cell line, established from a patient with acute lymphoblastic leukemia (9).
Specificity	SDS-PAGE analysis of immunoprecipitates formed between CEM cell lysate and the antibody shows that the antibody precipitates a 40 kDa polypeptide corresponding to CD7 (9). In flow cytometry, the antibody strongly labels the cell surface of Jurkat and CEM T-cell lines, whereas the Raji B-cell line is negative. Additionally, the antibody blocks the reaction of the CD7 antibody, clone DK24 (9).
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> 1. For in vitro diagnostic use. 2. For professional users. 3. 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. 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-CD7 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 EasyLys™ 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 (10, 11).

FRANÇAIS

Utilisation prévue	Pour utilisation diagnostique in vitro. Le Monoclonal Mouse Anti-Human CD7/PerCP-Cy5.5, Clone CBC.37, est destiné à être utilisé en cytométrie de flux. L'anticorps anti-CD7, Clone CBC.37, est destiné à être utilisé pour l'identification des cellules exprimant le CD7. L'anticorps anti-CD7, en association avec un panel d'autres anticorps, est considéré comme essentiel pour l'évaluation initiale des leucémies aiguës lymphoblastiques à lymphocytes T (LAL-T) et des leucémies chroniques à lymphocytes T (1, 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	gp40 (3).
Résumé et explication	<p>Le CD7 est une glycoprotéine transmembranaire de 40 kDa exprimée sur les thymocytes, les lymphocytes T matures, sur une large majorité des cellules tueuses naturelles (NK), les cellules souches hématopoïétiques pluripotentes et les cellules progénitrices des cellules lymphoïdes et myéloïdes (3-6). Le CD7 est un des antigènes spécifiques des lymphocytes T le plus précocement exprimé sur les lymphocytes. C'est aussi le seul marqueur précoce demeurant présent tout au long de la différenciation (5).</p> <p>Le CD7 est exprimé dans la plupart des LAL-T indifférenciées, à thymocytes communs et à thymocytes matures, des leucémies prolymphocytaires à lymphocytes T, des leucémies à lymphocytes T de l'adulte, des leucémies à grandes cellules granuleuses et quelques leucémies à lymphocytes T et lymphomes T cutanés (1, 7). Le CD7 est également exprimé dans certains cas de leucémies myéloïdes aiguës ayant pour origine les cellules souches hématopoïétiques (8). Des lymphocytes T déficients en CD7 ont été observés dans l'immunodéficience sévère combinée (SCID) et dans l'arthrite rhumatoïde (3, 7).</p>
Réactif fourni	Le conjugué anti-CD7, PR711, 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> : IgG2b, 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	Lignée lymphocytaire T CEM (ATTC CCL-199), une lignée cellulaire lymphoblastoïde T, établie à partir d'un patient atteint de leucémie aiguë lymphoblastique (9).
Spécificité	L'analyse par SDS-PAGE d'immunoprecipités formés entre le lysat cellulaire CEM et l'anticorps montre que l'anticorps précipite un polypeptide de 40 kDa correspondant à la CD7 (9).
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毒ique 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"> Transférer 100 µL de sang non coagulé dans un tube à essai en polystyrène de 12 mm x 75 mm. Ajouter 5 µL d'anticorps anti-CD7 conjugué à un fluorochrome et mélanger doucement à l'aide d'un mélangeur Vortex. Incuber le tube dans l'obscurité à 2-8 °C pendant 30 minutes. 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. 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. Ajouter 2 mL de PBS (réf. S3024) dans le tube et remettre les cellules en suspension à l'aide d'un mélangeur Vortex. Répéter l'étape 5. Remettre les cellules en suspension dans un liquide approprié pour la cytométrie en flux, ex. : 0,4 mL de PBS. Analyser l'échantillon à l'aide d'un cytomètre en flux.
Remarques sur la procédure	<p>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.</p> <p>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.</p>
Limitations spécifiques du produit	<p>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 fond (10, 11).</p>

DEUTSCH

Verwendungszweck	Zur In-vitro-Diagnostik. Monoclonal Mouse Anti-Human CD7/PerCP-Cy5.5, Clone CBC.37, ist zur Verwendung in der Durchflusszytometrie bestimmt. Anti-CD7, Clone CBC.37, dient zur Verwendung bei der Identifizierung von Zellen, die CD7 exprimieren. Anti-CD7 gilt zusammen mit einem Panel weiterer Antikörper (2) als unentbehrlich zur Erstuntersuchung von akuten lymphoblastischen T-Zell-Leukämien (T-ALL) und chronischen T-Zell-Leukämien (1). Die Ergebnisse müssen von einem qualifizierten Experten unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten ausgewertet werden
Synonyme Bezeichnungen des Antigens	gp40 (3).
Zusammenfassung und Erklärung	<p>CD7 ist ein membrangebundenes Glykoprotein von 40 kDa, das auf Thymozyten, reifen T-Zellen, der überwiegenden Mehrzahl von natürlichen Killerzellen, pluripotenten hämatopoietischen Stammzellen und Vorläuferzellen von lymphoiden und myeloischen Zellen exprimiert wird (3-6). CD7 ist eines der am frühesten in Lymphozyten exprimierten T-Zell-spezifischen Antigene und der einzige frühe Marker, der die gesamte Differenzierung überdauert (5).</p> <p>CD7 wird auf den meisten unreifen, gewöhnlichen thymozytischen und reifen T-ALL, prolymphozytischen T-Zell-Leukämien, adulten T-Zell-Leukämien, großen granulären Leukämien und einigen kutanen T-Zell-Leukämien/Lymphomen exprimiert (1, 7). CD7 wird auch bei besonderen Fällen akuter myeloischer Leukämie exprimiert, die ihren Ursprung in hämatopoietischen Stammzellen hat (8).</p> <p>CD7-defiziente T-Zellen wurden bei schwerer kombinierter Immundefizienz (SCID) und rheumatoider Arthritis beobachtet (3, 7).</p>
Geliefertes Reagenz	<p>Das Anti-CD7-Konjugat PR711 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 NaN₃, pH 7.2 geliefert. Jeder Behälter enthält 100 Tests (5 µL Konjugat/Test) für bis zu 10⁶ Leukozyten aus normalem humanem peripherem Blut.</p> <p>Isotyp: IgG2b, 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.</p>
Immunogen	CEM-T-Zell-Linie (ATCC CCL-199), eine T-Lymphoblastoid-Zelllinie, gewonnen aus einem Patienten mit akuter lymphoblastischer Leukämie (9).
Spezifität	<p>Die SDS-PAGE-Analyse von Immunpräzipitaten, die zwischen CEM-Zelllysat und dem Antikörper gebildet werden, zeigt, dass der Antikörper ein Polypeptid von 40 kDa ausfällt, welches CD7 entspricht (9).</p> <p>In der Durchflusszytometrie markiert der Antikörper die Zelloberfläche von Jurkat- und CEM-T-Zelllinien stark, die Raji-B-Zelllinie bleibt dagegen negativ. Außerdem blockiert der Antikörper die Reaktion des CD7-Antikörpers, Klon DK24 (9).</p>
Vorsichtsmaßnahmen	<ol style="list-style-type: none"> Zur In-vitro-Diagnostik. Für Fachpersonal. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN₃), 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. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden. Geeignete persönliche Schutzausrüstung (PSA) tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden. 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 Patientengewebeproben 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-CD7 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 mit einem Vortex-Mischer vorsichtig mischen. Teströhrchen 15 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubieren.
5. 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. 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 (10, 11).

References/ Bibliographie/ Literaturnachweise

1. van Dongen JJM, Adriaansen HJ. Chapter 6. Immunobiology of leukaemia. In: Henderson ES, Lister TA, Greaves MF. Leukemia. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: WB Saunders Company; 1996. p. 83-130.
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. Bowen MA. CD Guide. CD7. 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. 754.
4. Reiter C. Cluster report: CD7. 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. 341-2.
5. Chang KL, Weiss LM. CD7. Appl Immunohistochem 1994; 2:146-56.
6. Bowen MA. TC8. CD7 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. 62-3.
7. Sempowski GD, Lee DM, Kaufman RE, Haynes BF. Structure and function of the CD7 molecule. Crit Rev Immunol 1999;19:331-48.
8. Miwa H, Nakase K, Kita K. Biological characteristics of CD7(+) acute leukemia. Leukemia Lymphoma 1996;21:239-44.
9. Al Saati T, Alibaud L, Lamant L, Boyes J, March M, Delsol G. A new monoclonal anti-CD7 antibody reactive on paraffin sections. Appl Immunohistochem Mol Morphol 2001;9:289-96.
10. 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.
11. 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 to 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	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