

**Monoclonal Mouse
Anti-Human CD3**
Clone F7.2.38

Code M7254

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD3, Clone F7.2.38, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels CD3 and is a useful aid for the identification of T cells. Results aid in the classification of T-cell neoplasms (1). Differential classification is aided by the results from a panel of antibodies. The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist. This antibody is intended to be used after the primary diagnosis of tumor has been made by conventional histopathology using nonimmunologic histochemical stains.

Synonyms for antigen

T3, CD3 complex (2).

Summary and explanation

The CD3 complex is composed of six polypeptides with usually four different transmembrane CD3 chains, γ (gamma), δ (delta), ϵ (epsilon), and ζ (zeta). Three different dimers, $\gamma\epsilon$, $\delta\epsilon$, and $\zeta\zeta$, constitute the CD3 complex. The Mr of CD3 ϵ is 20 000 (2).

CD3 is first detectable in early thymocytes and its appearance probably represents one of the earliest signs of commitment to the T-cell lineage (3). In cortical thymocytes, the antigen is predominantly present as an intracyto-plasmic constituent. It appears subsequently, at the medullar thymocyte stage, on the T-cell surface in close association with the T-cell receptor (TCR). Whereas the TCR forms the ligand-binding part of the TCR/CD3 complex, the function of the CD3 molecule is that of signalling, making CD3 a highly specific marker for T cells. No other cells are known to express the CD3 molecule, although two monoclonal antibodies raised against CD3 have been found to react with Purkinje cells in the cerebellum (4).

The CD3 molecule may be present in the great majority of T-cell neoplasms, although occasional tumors are encountered in which the antigen is lost as part of the neoplastic process (5). The CD3 molecule may also be expressed in some cases of malignant histiocytosis (6) and Hodgkin's lymphoma (7).

CD3 ϵ , and not the whole CD3 molecule, has been detected in the cytoplasm of natural killer (NK) cells (8), and CD3 ϵ may be a marker of nasal T-cell lymphomas which are thought to be of NK cell origin (9).

Refer to *Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: Principle of Procedure; Materials Required, Not Supplied; Storage, Specimen Preparation; Staining Procedure; Quality Control; Troubleshooting; Interpretation of Staining; General Limitations.

Reagent provided

Monoclonal mouse antibody provided in liquid form as cell culture supernatant dialysed against 0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.2, and containing 15 mmol/L NaN₃.

Clone: F7.2.38 (1). Isotype: IgG1, kappa.

Mouse IgG concentration: see label on vial.

The protein concentration between lots may vary without influencing the optimal dilution. The titer of each individual lot is compared and adjusted to a reference lot to ensure a consistent immunohistochemical staining performance from lot-to-lot.

Immunogen

Purified CD3 $\epsilon\gamma\delta$ /CD3 ω (1).

Specificity

In Western blotting of FOX B cells transfected with CD3 ϵ cDNA (T116.4.3) or Jurkat E6.1 T cells, the antibody labels a 20 kDa band under reducing conditions, corresponding to CD3 ϵ . No labeling was observed in non-transfected FOX B cells (1).

The antibody is most likely directed against the cytoplasmic region of the CD3 ϵ chain and works equally well in immunohistochemistry as the Dako Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3, Code A0452 (1).

Precautions

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 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 user must verify the conditions. 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.

Specimen preparation

Paraffin sections: The antibody can be used for labeling paraffin-embedded tissue sections fixed in formalin, Duboscq-Brasil, Bouin's, or Bouin Holland (1). Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is required. For tissues fixed in formalin, optimal results are obtained with 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0. Less optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, or 10 mmol/L citrate buffer, pH 6.0 and pre-treatment of tissues with proteinase K. The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure.

Frozen sections and cell preparations: The antibody can be used for labeling frozen sections (1). The user must validate the staining procedure.

Staining procedure

These are guidelines only. Optimal conditions may vary depending on specimen type and preparation method, and should be validated individually by each laboratory. The performance of this antibody should be established by the user when utilized with other manual staining systems or automated platforms.

Dilution: Monoclonal Mouse Anti-Human CD3, Code M7254, may be used at a dilution range of 1:25-1:50 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in 10 mmol/L Tris buffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. The recommended negative control is Dako Mouse IgG1, Code X0931, diluted to the same mouse IgG concentration as the primary antibody. Unless the stability of the

diluted antibody and negative control has been established in the actual staining procedure, it is recommended to dilute these reagents immediately before use, or dilute in Dako Antibody Diluent, Code S 0809.

Quality control: Positive and negative control tissues as well as negative control reagent should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimen.

Visualization: Dako EnVision+HRP kits, E.g. Code K4005, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display membranous and/or cytoplasmic staining.

Performance characteristics

Normal tissues: In thymus the antibody strongly labels lymphoid cells in the medulla and cortex. In tonsil and lymph node, interfollicular areas containing the T lymphocytes are strongly labeled, as also small reactive T cells in the B-cell follicles. With the exception of scattered T cells, all other normal human tissues studied were negative with the antibody (1).

Abnormal tissues: The majority of T-cell lymphomas, 41/52 cases, were labeled by the antibody. Of non-Hodgkin's lymphomas, the antibody labeled 10/10 precursor T-lymphoblastic lymphomas/leukemias, 11/11 peripheral T-cell lymphomas, 8/8 mycosis fungoides/Sezary syndrome, 2/2 angioimmunoblastic T-cell lymphomas (AILD), 1/1 intestinal T-cell lymphoma, 6/14 anaplastic large cell lymphomas (ALCL), 3/5 extranodal NK/T-cell lymphomas, nasal type, and 0/1 T-cell large cell granular lymphocytic leukemia. In cases of Hodgkin's lymphoma, only 1/6 nodular sclerosis, and 1/1 unclassified showed focal cytoplasmic staining, whereas none of 5 cases of lymphocytic predominance, and 9 cases of mixed cellularity were labeled. None of 37 cases of different B-cell lymphomas were labeled (1).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Monoclonal Mouse Anti-Human CD3, clone F7.2.38, est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). L'anticorps marque la CD3 et s'avère utile pour l'identification des lymphocytes T. Les résultats obtenus facilitent la classification des néoplasmes à lymphocytes T (1). La classification différentielle est facilitée par les résultats provenant d'un panel d'anticorps. L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié. Cet anticorps est destiné à être utilisé après un diagnostic primaire de tumeur par histopathologie traditionnelle utilisant des colorations histochimiques non immunologiques.

Synonymes de l'antigène

T3, complexe CD3 (2).

Résumé et explication

Le complexe CD3 est composé de six polypeptides comportant généralement quatre chaînes CD3 transmembranaires : γ (gamma), δ (delta), ϵ (epsilon), et ζ (zeta). Trois dimères différents, $\gamma\epsilon$, $\delta\epsilon$, et $\zeta\zeta$, constituent le complexe CD3. Le poids moléculaire de la CD3 ϵ est de 20 000 (2).

La CD3 est d'abord détectable dans les thymocytes précoces et son apparition constitue probablement l'un des tout premiers signes d'implication dans la lignée lymphocytaire T (3). Dans les thymocytes corticaux, l'antigène est principalement présent sous forme de constituant intracytoplasmique. Il apparaît par la suite, lors de l'étape médullaire des thymocytes, à la surface des lymphocytes T, étroitement associé au récepteur de lymphocytes T (TCR). Tandis que le TCR constitue la partie de liaison au ligand du complexe TCR/CD3, la fonction de la molécule CD3 est d'agir comme signal, ce qui fait du CD3 un marqueur hautement spécifique des lymphocytes T. Aucune autre cellule n'est connue pour exprimer la molécule CD3, bien que deux anticorps monoclonaux mis en présence de CD3 aient présenté une réaction aux cellules de Purkinje du cervelet (4).

La molécule CD3 peut être présente dans la grande majorité des néoplasmes à lymphocytes T, bien qu'on rencontre parfois des tumeurs dans lesquelles l'antigène a disparu au cours du processus néoplasique (5). La molécule CD3 peut également être exprimée dans certains cas d'histiocytose maligne (6) et de lymphome hodgkinien (7).

CD3 ϵ , et non la molécule CD3 complète, a été détectée dans le cytoplasme des cellules tueuses (NK) (8) ; la CD3 ϵ peut donc constituer un marqueur des lymphomes nasaux à lymphocytes T dont les cellules NK semblent être à l'origine (9).

Consulter le document *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Instructions générales de coloration immunohistochimique) de Dako ou les instructions du kit de détection pour les procédures IHC : Principe de la procédure, Matériel requis mais non fourni, Conservation, Préparation des échantillons, Procédure de coloration, Contrôle de qualité, Dépannage, Interprétation de la coloration, Limites générales.

Réactif fourni

Anticorps monoclonal de souris, fourni sous forme liquide en tant que surnageant de culture cellulaire, dialysé contre 0,05 mol/L de Tris-HCl à pH 7,2 et contenant 15 mmol/L d'azide de sodium (NaN₃).

Clone : F7.2.38 (1). **Isotype :** IgG1, kappa.

Concentration en IgG de souris : Voir l'étiquette sur le flacon.

La concentration en protéines peut varier d'un lot à l'autre sans que cela influence la dilution optimale. Le titre de chaque lot est comparé et ajusté par rapport à un lot de référence pour assurer des performances de coloration immunohistochimiques cohérentes d'un lot à l'autre.

Immunogène

CD3 ϵ γ δ /CD3 ω purifiée (1).

Spécificité

Lors de l'analyse par Western blot des lymphocytes B FOX transfectés par l'ADNc de CD3 ϵ (T116.4.3) ou des lymphocytes T Jurkat E6.1, l'anticorps a marqué une bande de 20 kDa lors d'une réduction, ce qui correspond à la CD3 ϵ . Aucun marquage n'a été observé dans les lymphocytes B FOX non transfectés (1).

L'anticorps est très probablement dirigé contre la région cytoplasmique de la chaîne CD3 ϵ et fonctionne tout aussi bien en immunohistochimie en tant qu'anticorps Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3 de Dako, réf. A0452 (1).

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro.
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un produit chimique hautement toxique à l'état pur. 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, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
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

Conservé 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.

Préparation des échantillons

Coupes en paraffine : L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus incluses en paraffine et fixées au formol ou au mélange de Duboscq-Brasil, liquide de Bouin ou Bouin Hollande (1). Le prétraitement des tissus déparaffinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est nécessaire. Pour les tissus fixés au formol, des résultats optimaux sont obtenus dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0. Des résultats moins optimaux sont obtenus avec la Dako Target SSM7254CEEF_G_01/2017.02 p. 2/4

Retrieval Solution, réf. S1700 ou dans un tampon citrate à 10 mmol/L, à pH 6,0 et un prétraitement des tissus par la protéinase K. Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante.

Coupes congelées et préparations cellulaires : L'anticorps peut être utilisé pour marquer des coupes congelées (1). L'utilisateur doit valider la procédure de coloration.

Procédure de coloration

Il ne s'agit là que de conseils. Les conditions optimales peuvent varier en fonction du type de prélèvement et de la méthode de préparation, et doivent être validées individuellement par chaque laboratoire. Les performances de cet anticorps doivent être établies par l'utilisateur lorsqu'il est utilisé avec d'autres systèmes de coloration manuelle ou plates-formes automatisées.

Dilution : Le Monoclonal Mouse Anti-Human CD3, réf. M7254, peut être utilisé à une gamme de dilution de 1:25-1:50 lorsqu'il est appliqué sur des coupes de tissu amygdalien fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant une restauration d'épitope induite par la chaleur de 20 minutes dans un tampon Tris à 10 mmol/L, EDTA à 1 mmol/L, à pH 9,0 et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Mouse IgG1, réf. X0931, dilué à la même concentration en IgG de souris que l'anticorps primaire. À moins que la stabilité de l'anticorps dilué et du contrôle négatif n'ait été établie dans la procédure de coloration en cours, il est recommandé de diluer ces réactifs immédiatement avant utilisation ou de les diluer avec le produit Dako Antibody Diluent, réf. S 0809.

Contrôle de qualité : Les tissus de contrôle positifs et négatifs, ainsi que le réactif de contrôle négatif, doivent être testés en parallèle selon le même protocole que pour les échantillons de patients.

Visualisation : Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+/HRP, réf. K4005. Suivre la procédure incluse dans le kit de visualisation sélectionnée.

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration cytoplasmique et/ou membranaire.

Performances

Tissus sains : Dans le thymus, l'anticorps marque fortement les cellules lymphoïdes de la medulla et du cortex. Dans l'amygdale et le ganglion lymphatique, les zones interfolliculaires contenant les lymphocytes T sont fortement marquées, de même que les petits lymphocytes T réactifs dans les follicules de cellules B. À l'exception des lymphocytes T disséminés, tous les autres tissus sains humains étudiés sont négatifs à l'anticorps (1).

Tissus anormaux : La majorité des lymphomes à lymphocytes T, 41 cas sur 52, ont été marqués par l'anticorps. Parmi les lymphomes non hodgkiniens, l'anticorps a marqué 100% des cas de lymphome/leucémie à lymphoblastes T précurseurs (10/10), lymphome périphérique à lymphocytes T (11/11), mycosis fongoïde/syndrome de Sézary (8/8), lymphome angio-immunoblastique à lymphocytes T (AILD) (2/2), lymphome intestinal à lymphocytes T (1/1) ; il a également marqué 6 lymphomes anaplasiques à grandes cellules (ALCL) sur 14, 3 lymphomes extra-ganglionnaires à lymphocytes T/cellules NK de type nasal sur 5, et enfin, aucune leucémie lymphocytaire granulaire à grandes cellules et à lymphocytes T (0 sur 1). Dans les cas de lymphome hodgkinien, seule 1 sclérose nodulaire sur 6 et 1 cas non répertorié sur 1 ont présenté une coloration cytoplasmique focale, tandis qu'aucun des 5 cas à prédominance lymphocytaire et des 9 cas de cellularité mixte n'a été marqué. Aucun des 37 cas de lymphome à cellules B n'a été marqué (1).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD3, Clone F7.2.38, ist zur Verwendung in der Immunhistochemie bestimmt (IHC). Der Antikörper markiert CD3 und ist eine nützliche Hilfe bei der Identifikation von T-Zellen. Die Ergebnisse tragen zur Klassifizierung von T-Zell-Neoplasien bei (1). Die Differenzialklassifikation wird durch die Ergebnisse eines Antikörper-Panels unterstützt. Die klinische Auswertung einer eintretenden oder ausbleibenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden. Dieser Antikörper ist für den Einsatz nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen vorgesehen.

Synonyme Bezeichnungen des Antigens

T3, CD3-Komplex (2).

Zusammenfassung und Erklärung

Der CD3-Komplex besteht aus sechs Polypeptiden, die normalerweise vier verschiedenen transmembrane CD3-Ketten, γ (Gamma), δ (Delta), ϵ (Epsilon) und ζ (Zeta) enthalten. Drei verschiedene Dimer $\gamma\epsilon$, $\delta\epsilon$ und $\zeta\zeta$, stellen den CD3-Komplex dar. Das Mr von CD3 ϵ beträgt 20 000 (2).

CD3 kann zuerst in frühen Thymozyten erkannt werden und sein Erscheinungsbild stellt wahrscheinlich eines der frühesten Anzeichen für eine Bindung an die T-Zellen dar (3). In kortikalen Thymozyten liegt das Antigen überwiegend als intrazytoplasmatischer Bestandteil vor. In der Folge, also im medullären Stadium der Thymozyten, tritt es in enger Verbindung mit dem T-Zellen-Rezeptor (TCR) an der Oberfläche von T-Zellen auf. Während der TCR den ligandenbindenden Teil des TCR/CD3-Komplexes darstellt, besteht die Funktion des CD3-Moleküls in der Nachrichtenübermittlung, was CD3 zu einem hochspezifischen T-Zell-Marker macht. Von anderen Zellen ist eine Expression des CD3-Moleküls nicht bekannt; allerdings ist für zwei gegen CD3 gezüchtete monoklonale Antikörper eine Reaktion mit den Purkinje-Zellen im Kleinhirn nachgewiesen worden (4).

Das CD3-Molekül liegt möglicherweise bei der überwiegenden Mehrheit aller T-Zellen-Neoplasmen vor, auch wenn gelegentlich Tumore vorkommen, in denen das Antigen im Zuge des neoplastischen Prozesses verloren gegangen ist (5). Das CD3-Molekül wird möglicherweise in einigen Fällen auch von maligner Histiozytose (6) und Hodgkin-Lymphom (7) exprimiert.

Im Zytoplasma natürlicher Killerzellen (8) (NK-Zellen) ist nur CD3 ϵ , nicht aber das ganze CD3-Molekül nachgewiesen worden. CD3 ϵ könnte ein Marker für nasale T-Zellen-Lymphome sein, von denen angenommen wird, dass sie von NK-Zellen abstammen (9).

Folgende Angaben bitte den *General Instructions for Immunohistochemical Staining* (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien, Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, Lagerung, Gewebepreparation, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Monoklonale Mausantikörper in flüssiger Form als gegen 0,05 mol/L Tris-HCl, pH 7,2 und 15 mmol/L Na₂Na₃ dialysierter Zellkulturüberstand.

Klon: F7.2.38 (1). Isotyp: IgG1, Kappa.

Konzentration von Maus-IgG: Siehe Behälteretikett.

Die Proteinkonzentration kann zwischen Chargen abweichen, ohne die optimale Verdünnung zu beeinflussen. Der Titer jeder Charge wird mit dem einer Referenzcharge verglichen und dieser angeglichen, um konstante immunhistochemische Färberegebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.

Immunogen

Gereinigt CD3 $\epsilon\gamma\delta$ /CD3 ω (1).

Spezifität

Beim Western Blotting von mit CD3 ϵ cDNA (T116.4.3) oder Jurkat E6.1 T-Zellen transfizierten FOX B-Zellen markierte der Antikörper unter Reduktionsbedingungen eine Bande von 20 kDa, entsprechend CD3 ϵ . In nicht-transfizierten FOX B-Zellen wurde keine Markierung beobachtet (1).

Der Antikörper richtet sich mit der höchsten Wahrscheinlichkeit gegen die zytoplasmatische Region der CD3 ϵ -Kette und funktioniert in der Immunhistochemie ebenso gut wie Dako Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3, Code-Nr. A0452 (1).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Zur In-vitro-Diagnostik.
2. 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 Metall-Azid-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 lagern. 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 Anfärbung 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.

Gewebevorbereitung

Paraffinschnitte: Der Antikörper kann für die Markierung von paraffineingebetteten, in Formalin, Duboscq-Brasil-, Bouin- oder Bouin-Holland-Lösung (1) fixierten Gewebeschnitten verwendet werden. Die Vorbehandlung des Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ist erforderlich. Bei in Formalin fixiertem Gewebe werden optimale Resultate mit 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0 erzielt. Weniger optimale Resultate werden mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700 oder 10 mmol/L Zitratpuffer, pH 6.0 und der Vorbehandlung von Gewebe mit Proteinkinase K erreicht. Während der Gewebepreparierung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebeschnitte nicht austrocknen.

Gefrierschnitte und Zellpräparate: Der Antikörper eignet sich zur Markierung von Gefrierschnitten (1). Das Färbeverfahren muss vom Anwender validiert werden.

Färbeverfahren

Diese Angaben sind nur Richtlinien. Optimale Bedingungen können je nach Gewebetyp und Vorbereitungsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Die Leistung dieses Antikörpers sollte vom Benutzer bei einem Einsatz mit anderen manuellen Färbesystemen oder automatisierten Systemen ermittelt werden.

Verdünnung: Monoclonal Mouse Anti-Human CD3, Code-Nr. M7254, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von humanem Mandelgewebe bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten in 10 mmol/L Tris-Puffer, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0 und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 01:25 und 1:50 verwendet werden. Als Negativkontrolle wird Dako Mouse IgG1, Code-Nr. X0931, empfohlen, das auf dieselbe Konzentration an Maus-IgG wie der primäre Antikörper verdünnt wurde. Falls die Stabilität des verdünnten Antikörpers und der Negativkontrolle für das verwendete Färbeverfahren nicht erwiesen ist, wird empfohlen, diese Reagenzien unmittelbar vor der Verwendung bzw. in Dako Antibody Diluent, Code-Nr. S0809, zu verdünnen.

Qualitätskontrolle: Positiv- und Negativkontrollgewebe sowie Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

Detektionssystem: Dako EnVision+HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4005) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Detektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen eine zytoplasmatische und/oder membranöse Färbung auf.

Leistungseigenschaften








Normalgewebe: Beim Thymus ist der Antikörper ein wirksamer Marker für lymphoide Zellen in Medulla und Kortex. In Mandeln und Lymphknoten werden interfollikuläre, T-Lymphozyten enthaltende Bereiche ebenso stark markiert wie kleine reaktive T-Zellen in den B-Zellfollikeln. Mit Ausnahme einzelner T-Zellen reagierten alle übrigen untersuchten Humangewebe nicht mit dem Antikörper (1).

Anormales Gewebe: Die meisten T-Zell-Lymphome, 41/52 Fälle, wurden durch den Antikörper markiert. Unter den Non-Hodgkin-Lymphomen markierte der Antikörper 10/10 Vorläuferzellen von T-lymphoblastischen Lymphomen/Leukämien, 11/11 peripheren T-Zell-Lymphomen, 8/8 Fällen von Mycosis fungoides/Sezary-Syndrom, 2/2 der angioimmunoblastischen Lymphadenopathien (AILD), 1/1 intestinales T-Zell-Lymphom, 6/14 anaplastischen großzelligen Lymphomen (ALCL), 3/5 extranodalen NK/T-Zell-Lymphomen, nasaler Typ, und 0/1 großzelliger granularer T-Lymphozyten-Leukämie. Beim Hodgkin-Lymphom trat nur bei 1/6 nodulären Sklerosen und 1/1 nichtklassifiziertem Lymphom eine fokale zytoplasmatische Färbung auf; dagegen wurde keiner von 5 Fällen mit Lymphozyten-Prädominanz bzw. 9 gemischtzelligen Fällen markiert. Keines von 37 B-Zell-Lymphomen unterschiedlichen Typs wurde markiert (1).

References / Bibliographie / Literaturnachweise

- Alibaud L, Llobera R, Al Saati T, March M, Delsol G, Rubin B. A new monoclonal anti-CD3 antibody reactive on paraffin sections. J Histochem Cytochem 2000;48:1609-16.
- Jin YJ, Koyasu S, Moingeon P, Steinbrich R, Tarr GE, Reinherz EL. A fraction of CD3 epsilon subunits exists as disulfide-linked dimers in both human and murine T lymphocytes. J Biol Chem 1990;265:15850-3.
- Campana D, Thompson JS, Amlot P, Brown S, Janossy G. The cytoplasmic expression of CD3 antigens in normal and malignant cells of the T lymphoid lineage. J Immunol 1987;138:648-55.
- Garson JA, Beverley PCL, Coakham HB, Harper EI. Monoclonal antibodies against human T lymphocytes label Purkinje neurones of many species. Nature 1982;298:375-7.
- Picker LJ, Weiss LM, Medeiros LJ, Wood GS, Warnke RA. Immunophenotypic criteria for the diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma. Am J Pathol 1987;128:181-201.
- Wilson MS, Weiss LM, Gatter KC, Mason DY, Dorfman RF, Warnke RA. Malignant histiocytosis. A reassessment of cases previously reported in 1975 based on paraffin section immunophenotyping studies. Cancer 1990;66:530-6.
- Cibull ML, Stein H, Gatter KC, Mason DY. The expression of the CD3 antigen in Hodgkin's disease. Histopathology 1989;15:597-605.
- Lanier LL, Chang C, Spits H, Phillips JH. Expression of cytoplasmic CD3ε proteins in activated human adult natural killer (NK) cells and CD3γ, δ, ε complexes in fetal NK cells. J Immunol 1992;149:1876-80.
- Ohno T, Yamaguchi M, Oka K, Miwa H, Kita K, Shirakawa S. Frequent expression of CD3ε in CD3 (Leu 4)-negative nasal T-cell lymphomas. Leukemia 1995;9:44-52.

Explanation of symbols / Erläuterung der Symbole / Explication des symboles

| | | | | |
|--|---|---|--|---|
|  REF | Catalogue number Référence du catalogue Katalognummer |  2 °C - 8 °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 | |
|  i | Consult instructions for use Consulter le mode d'emploi Gebrauchsanweisung beachten |  | Use by Utiliser avant Verwendbar bis | |