

**Polyclonal Rabbit
Anti-Human CD3**
Code A0452
ENGLISH

Intended use	For in vitro diagnostic use. Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3, is intended for use in immunohistochemistry (IHC). The antibody labels CD3 and is a useful tool for the identification of T cells. Results aid in the classification of T-cell neoplasms (1, 2). 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 (3).
Summary and explanation	CD3 consists of at least four different components ($\gamma, \delta, \epsilon, \zeta$) of 20-28 kDa. On the lymphocyte cell surface, CD3 is non-covalently associated with the T-cell receptor (TCR). It is believed that the CD3 components of the TCR/CD3 complex mediate signal transduction upon antigen recognition by TCR (4). CD3 is expressed by T cells in thymus, bone marrow, peripheral lymphoid tissue and blood (5, 6). The only other normal cell type known to be labelled by antibodies to CD3, is Purkinje cells in the cerebellum (7). The CD3 antigen is first detectable in early thymocytes and its appearance probably represents one of the earliest signs of commitment to the T-cell lineage (5). In immature thymocytes the CD3 expression is solely cytoplasmic, membrane-associated CD3 appears subsequently upon cell maturation (5). The majority of T-cell neoplasms may express the CD3 antigen, while it appears to be absent from non-T-cell lymphoid malignancies (8). Consistent with the pattern of synthesis of the antigen in normal thymocytes, the earliest site where CD3 is detectable within neoplastic cells is in the cell cytoplasm (5). Refer to <i>Dako General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> 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	Affinity-isolated rabbit anti-human CD3 provided in liquid form. In 0.05 mol/L Tris-HCl, 0.1 mol/L NaCl, 15 mmol/L NaN ₃ . The affinity isolation has been performed using immobilized CD3 peptide. <u>Protein concentration:</u> 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	Synthetic peptide comprising amino acids 156-168 from the cytoplasmic part of the human CD3 ϵ -chain coupled to thyroglobulin (1).
Specificity	In Western blotting, the antibody detects bands of the expected molecular weights for CD3 antigens (2). The antibody recognizes CD3 ϵ in both a T-cell line (Jurkat) and a natural killer cell line (NK11), but does not react with lysates prepared from several B-cell lines (Raji, Ramos and JY), a myeloid cell line (U937) or a colon carcinoma cell line (Colo-205) (9). In immunoprecipitation from Nonidet P40 lysates of surface-iodated T lymphoblasts, the antibody precipitates the γ (26 kDa), δ (21 kDa) and ϵ (19 kDa) chain of the CD3 molecule, similar to the precipitation pattern seen using the well-characterized monoclonal mouse anti-human CD3, clone UCHT1 (1). In ELISA, the antibody labels the CD3 peptide used as immunogen.
Precautions	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 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. Pre-treatment of deparaffinized tissues with heat-induced epitope retrieval is required. Optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, pH 9, Code S2368. Less optimal results are obtained with Dako Target Retrieval Solution, Code S1700, or Dako Target Retrieval Solution, Citrate pH 6, Code S2369, and pre-treatment with Dako Proteinase K, Code S3020. 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. <u>Dilution:</u> Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3, Code A0452, may be used at a dilution range of 1:50-1:100 when applied on formalin-fixed, paraffin-embedded sections of human tonsil and using 20 minutes heat-induced epitope retrieval in Dako Target Retrieval Solution, pH 9, Code S2368, and 30 minutes incubation at room temperature with the primary antibody. The recommended negative control is Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), Code X0936, diluted to the same protein 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 S0809. <u>Quality control:</u> 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 K4009, are recommended. Follow the procedure enclosed with the selected visualization kit.

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display staining confined to the cytoplasm and/or cell membrane.

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody labels T cells in various tissues including tonsil and colon.

Abnormal tissues: The antibody labeled 73/96 T-cell neoplasms, including 7/9 lymphoblastic, 25/35 pleomorphic, 5/5 immunoblastic, 5/5 angiointerstitial, lymphadenopathy-like, 2/2 T-zone lymphomas, 19/19 mycosis fungoides/Sézary syndrome, 2/3 Lennert's lymphomas, 4/13 Ki-1 positive anaplastic large cell lymphomas, 3/4 lymphomatoid papulosis, 1/1 coeliac-associated lymphoma (1). The antibody labeled 149/149 cases of T-cell (precursor) acute lymphoblastic leukaemias/lymphomas (ALL). In 131/149 cases, 100% of the cells were labeled; in 14 cases between 50-90% of the cells were labeled; and in 4 cases less than 50% of the cells were labeled. No labeling was observed in 68/68 cases of B-cell (precursor) ALL, apart from reactive infiltrating T cells (2).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique in vitro.

L'anticorps Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3 est destiné à être utilisé en immunohistochimie (IHC). L'anticorps marque la CD3 et s'avère être utile pour l'identification des lymphocytes T. Les résultats obtenus facilitent la classification des néoplasmes à lymphocytes T (1, 2). 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 (3).

Résumé et explication

La CD3 comporte au moins quatre composants différents (γ , δ , ϵ , ζ) de 20 à 28 kDa. À la surface des lymphocytes, la CD3 est liée de manière non covalente au récepteur des lymphocytes T (TCR). On pense que les composants de la CD3 du complexe TCR/CD3 interviennent dans la transduction du signal lors de la reconnaissance de l'antigène par le TCR(4).

La CD3 est exprimée par les lymphocytes T dans le thymus, la moelle osseuse, le tissu lymphoïde périphérique et le sang (5, 6). Le seul autre type de cellule normal connu pour être marqué par les anticorps anti-CD3 est les cellules de Purkinje du cervelet (7). L'antigène anti-CD3 est d'abord détectable dans les thymocytes précoces et sa présence constitue probablement l'un des premiers signes d'appartenance à la lignée des lymphocytes T (5). Dans les thymocytes immatures, l'expression de la CD3 est uniquement cytoplasmique et la CD3 associée à la membrane apparaît par la suite, après la maturation cellulaire (5).

La majorité des néoplasmes à lymphocytes T peuvent exprimer l'antigène anti-CD3, alors qu'il est absent des tumeurs lymphoïdes non à lymphocytes T (8). Conformément au schéma de synthèse de l'antigène des thymocytes normaux, le premier site où la CD3 est détectable au sein des cellules néoplasiques est le cytoplasme cellulaire (5).

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 de lapin dirigé contre la CD3 humaine, isolé par affinité, fourni sous forme liquide. Tris/HCl à 0,05 mol/L, NaCl à 0,1 mol/L, NaN₃ à 15 mmol/L. L'isolement par affinité a été effectué en utilisant un peptide de la CD3 immobilisé.

Concentration en protéines : 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

Peptide de synthèse comprenant les acides aminés 156-168 provenant de la partie cytoplasmique de la chaîne CD3 ϵ - humaine couplée à la thyroglobuline (1).

Spécificité

Lors des analyses par Western blot, l'anticorps détecte des bandes de poids moléculaire attendu pour les antigènes anti-CD3 (2). L'anticorps reconnaît la CD3 ϵ tant dans une lignée de lymphocytes T (Jurkat) que dans une lignée de cellules tueuses naturelles (NK11) mais ne réagit pas aux lysats préparés à partir de plusieurs lignées de lymphocytes B (Raji, Ramos et JY), d'une lignée de cellules myéloïdes (U937) ou d'une lignée de cellules de carcinome du côlon (Colo-205) (9).

Lors de l'immunoprécipitation à partir de lysats Nonidet P40 de lymphoblastes T à surface iodée, l'anticorps précipite les chaînes γ (26 kDa), δ (21 kDa) et ϵ (19 kDa) de la molécule CD3, de manière similaire au schéma de précipitation observé lors de l'utilisation d'un anticorps monoclonal de souris dirigé contre la CD3 humaine bien caractérisé, clone UCHT1 (1).

Lors d'un test ELISA, l'anticorps marque le peptide CD3 utilisé comme immunogène.

Précautions d'emploi

1. Pour utilisation diagnostique in vitro
2. Pour utilisateurs professionnels.
3. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), 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 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. Le prétraitement des tissus déparafinés avec une restauration d'épitope induite par la chaleur est nécessaire. Des résultats optimaux sont obtenus avec la Dako Target Retrieval Solution, pH 9, réf. S2368. Des résultats moins optimaux sont obtenus avec la Dako Target Retrieval Solution, réf. S1700, ou la Dako Target Retrieval Solution, Citrate pH 6, réf. S2369, et un prétraitement avec la Dako Proteinase K, réf. S3020. 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	<p>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.</p>
	<p>Dilution : L'anticorps Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3, réf. A0452, peut être utilisé à une gamme de dilution de 1:50 à 1:100 lorsqu'il est appliqué sur des coupes d'amygdale humaine fixées au formol et incluses en paraffine, en utilisant une restauration d'épitope induite par la chaleur de 20 minutes dans le produit Dako Target Retrieval Solution, pH 9, réf. S2368, et une incubation de 30 minutes avec l'anticorps primaire à température ambiante. Le contrôle négatif recommandé est le produit Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), réf. X0936, dilué à la même concentration en protéines 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. S0809.</p>
	<p>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.</p>
	<p>Visualisation : Il est recommandé d'utiliser les kits Dako EnVision+/HRP, réf. K4009. Suivre la procédure incluse dans le kit de visualisation sélectionnée.</p>
Interprétation de la coloration	Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration limitée au cytoplasme et/ou à la membrane cellulaire.
Performances	<p>Tissus sains : L'anticorps marque les lymphocytes T dans divers tissus, y compris l'amygdale et le côlon.</p> <p>Tissus anormaux : L'anticorps marque 73/96 néoplasmes à lymphocytes T, y compris 7/9 lymphoblastiques, 25/35 pléomorphes, 5/5 immunoblastiques, 5/5 angio-immunoblastiques de type lymphadénopathie, 2/2 lymphomes de la zone T, 19/19 cas de mycose fongoïde/syndrome de Sézary, 2/3 lymphomes de Lennert, 4/13 lymphomes à grandes cellules anaplasiques positifs à la Ki-1, 3/4 papuloses lymphomatoides, 1/1 lymphome associé à une maladie cœliaque (1). L'anticorps a marqué 149 cas sur 149 de lymphomes/leucémies aiguës lymphoblastiques à lymphocytes T (précurseurs) (LAL). Dans 131 cas sur 149, 100% des cellules étaient marquées ; dans 14 cas, entre 50 et 90% des cellules étaient marquées ; et dans 4 cas, moins de 50% des cellules étaient marquées. Aucun marquage n'a été observé dans 68 cas sur 68 de LAL B (précurseurs), hormis celui des lymphocytes T infiltrants réactifs (2).</p>
DEUTSCH	
Verwendungszweck	Zur In-vitro-Diagnostik.
	Polyklonal Rabbit Anti-Human CD3 ist zur Verwendung in der Immunhistochemie (IHC) bestimmt. Der Antikörper markiert CD3 und ist ein nützliches Hilfsmittel bei der Identifikation von T-Zellen. Die Ergebnisse tragen zur Klassifizierung von T-Zell-Neoplasien bei (1, 2). 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 kommt nach der Primärdiagnose des Tumors durch konventionelle Histopathologie unter Verwendung von nicht immunologischen histochemischen Färbungen zum Einsatz.
Synonyme für das Antigen	T3, CD3-Komplex (3).
Zusammenfassung und Erklärung	<p>CD3 besteht aus mindestens vier verschiedenen Komponenten (γ, δ, ε, ζ) von 20-28 kDa. An der Zelloberfläche des Lymphozyten ist CD3 nichtkovalent an den T-Zellrezeptor (TCR) gebunden. Man vermutet, dass die CD3-Komponenten des TCR/CD3-Komplexes bei der Erkennung des Antigens durch den TCR die Signalübertragung vermitteln (4).</p> <p>CD3 wird von T-Zellen in Thymus, Knochenmark, peripherem lymphoidem Gewebe und Blut exprimiert (5, 6). Die einzigen anderen normalen Zellen, von denen bekannt ist, dass sie durch Antikörper gegen CD3 markiert werden, sind die Purkinje-Zellen im Kleinhirn (7). Das CD3-Antigen ist zunächst in frühen Thymozyten nachweisbar und sein Auftreten ist vermutlich eines der frühesten Zeichen einer Festlegung auf die T-Zell-Reihe (5). Bei unreifen Thymozyten ist die CD3-Expression ausschließlich zytoplasmatisch und membranassoziiertes CD3 tritt anschließend bei Zellreifung auf (5).</p> <p>Die Mehrheit der T-Zell-Neoplasmen kann das CD3-Antigen exprimieren, während es bei nicht-T-Zell-lymphoiden Malignitäten zu fehlen scheint (8). In Übereinstimmung mit dem Muster der Antgensynthese bei normalen Thymozyten ist der früheste Ort, an dem CD3 in neoplastischen Zellen nachweisbar ist, das Zellzytoplasma (5).</p> <p>Folgende Angaben bitte den <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Allgemeine Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung) von Dako bzw. den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-V erfahren entnehmen: Verfahrensprinzipien, Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, Lagerung, Gewebevorbereitung, Färbeverfahren, Qualitätskontrolle, Fehlerbehandlung, Auswertung der Färbung, Allgemeine Beschränkungen.</p>
Geliefertes Reagenz	Affinitätsisoliertes Kaninchen-Anti-Human-CD3 in Flüssigform. In 0.05 mol/L Tris-HCl, 0.1 mol/L NaCl, 15 mmol/L NaN ₃ . Die Affinitätsisolation wurde mithilfe von immobilisiertem CD3-Peptid durchgeführt.
	Protein-Konzentration: 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 Färbeergebnisse zwischen den Chargen zu gewährleisten.
Immunogen	An Thyroglobulin gekoppeltes synthetisches Peptid entsprechend den Aminosäuren 156 bis 168 aus dem zytoplasmatischen Teil der menschlichen CD3 ε -Kette (1).
Spezifität	Beim Western-Blotting weist der Antikörper Banden der erwarteten relativen Molekülmassen für CD3-Antigene nach (2). Der Antikörper erkennt CD3 ε sowohl in einer T-Zelllinie (Jurkat) als auch in einer NK-Zelllinie (NK11), reagiert aber nicht mit Lysaten aus verschiedenen B-Zelllinien (Raji, Ramos und JY), einer myeloischen Zelllinie (U937) oder einer Dickdarmkarzinomzelllinie (Colo-205) (9).
	In der Immunpräzipitation aus Nonidet-P40-Lysaten von oberflächenjodierten T-Lymphoblasten präzipitiert der Antikörper die γ - (26 kDa), δ - (21 kDa) und ε - (19 kDa) Kette des CD3-Moleküls ähnlich dem Präzipitationsmuster beim deutlich charakterisierten, monoklonalen antihumanen Maus-CD3, Klon UCHT1 (1).
	Beim ELISA-Verfahren markiert der Antikörper das als Immunogen eingesetzte CD3-Peptid.
Vorsichtsmaßnahmen	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zur In-vitro-Diagnostik 2. Für Fachpersonal. 3. 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. 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 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, formalinfixierten Gewebschnitten verwendet werden. Die Vorbehandlung des Gewebes durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung ist erforderlich. Optimale Ergebnisse werden unter Verwendung von Dako Target Retrieval Solution, pH 9, Code-Nr. S2368, erzielt. Weniger optimale Ergebnisse werden mit Dako Target Retrieval Solution, Code-Nr. S1700, oder Dako Target Retrieval Solution, Citrate pH 6, Code-Nr. S2369, und Vorbehandlung mit Dako Proteinase K, Code-Nr. S3020, erzielt. Während der Gewebevorbehandlung oder während des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens dürfen die Gewebschnitte 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: Polyclonal Rabbit Anti-Human CD3, Code-Nr. A0452, kann auf formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitten von menschlichem Mandelgewebe bei einer hitzeinduzierten Epitopdemaskierung von 20 Minuten in Dako Target Retrieval Solution, pH 9, Code-Nr. S2368, und einer 30-minütigen Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur in einem Verdünnungsbereich zwischen 1:50 und 1:100 verwendet werden. Als Negativkontrolle wird Dako Rabbit Immunoglobulin Fraction (Solid-Phase Absorbed), Code-Nr. X0936, empfohlen, das auf dieselbe Proteinkonzentration wie der Primärantikörper zu verdünnen ist. 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 Negativkontrollengewebe sowie Negativkontrollreagenz sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientengewebe getestet werden.

Dektionssystem: Dako EnVision+/HRP Kits (z. B. Code-Nr. K4009) werden empfohlen. Das für das ausgewählte Dektionssystem beschriebene Verfahren befolgen.

Auswertung der Färbung

Vom Antikörper markierte Zellen weisen eine auf das Zytoplasma und/oder die Zellmembran beschränkte Färbung auf.

Leistungseigenschaften

Normalgewebe: Der Antikörper markiert T-Zellen in verschiedenen Geweben einschließlich Mandeln und Dickdarm.

Anormales Gewebe: Der Antikörper markierte 73/96 T-Zellneoplasien, einschließlich 7/9 lymphoblastischen, 25/35 pleomorphen, 5/5 immunoblastischen, 5/5 angioimmunoblastischen lymphadenopathieartigen, 2/2 T-Zonen-Lymphomen, 19/19 Mycosis fungoides/Sézary-Syndrom, 2/3 Lennert-Lymphomen, 4/13 Ki-1 positiven, anaplastischen großzelligeren Lymphomen, 3/4 lymphomatoïden Papulosis, 1/1 Truncus coeliacus-assoziiertes Lymphom (1). Der Antikörper markierte 149 von 149 Fällen der auf die T-Zellreihe (Vorläufer) zurückgehenden akuten lymphoblastischen Leukämien/Lymphome (ALL). In 131 von 149 Fällen wurden 100% der Zellen, in 14 Fällen 50-90% der Zellen und in 4 Fällen weniger als 50% der Zellen markiert. Mit Ausnahme reaktiver infiltrierender T-Zellen wurde bei 68 von 68 Fällen der auf die B-Zelllinie (Vorläufer) zurückgehenden ALL keine Markierung festgestellt (2).

References/ Références/ Literatur

1. Mason DY, Cordell J, Brown M, Pallesen G, Ralfkiaer E, Rothbard J, et al. Detection of cells in paraffin wax embedded tissue using antibodies against a peptide sequence from the CD3 antigen. *J Clin Pathol* 1989;42:1194-1200.
2. Pilozzi E, Pulford K, Jones M, Müller-Hermelink H-K, Falini B, Ralfkiaer E, et al. Co-expression of CD79a (JCB117) and CD3 by lymphoblastic lymphoma. *J Pathol* 1988;186:140-3.
3. CD guide 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. 1111.
4. Jacobs H. Pre-TCR/CD3 and TCR/CD3 complexes: decamers with differential signalling properties? *Immunol Today* 1997;18:565-9.
5. 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.
6. Tunnacliffe HA, Olsson C, Traunecker A, Krissansen GW, Karjalainen K, De la Hera A. 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. *Leukocyte 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. Garson JA, Beverley PC, Coakham HB, Harper EI. Monoclonal antibodies against human T lymphocytes label Purkinje neurones of many species. *Nature* 1982;298:375-7.
8. Erber WN, Mynheer LC, Mason DY. APAAP labeling of blood and bone-marrow samples for phenotyping leukaemia. *Lancet* 1986;i:761-5.
9. Lanier LL, Chang C, Spitz H, Phillips JH. Expression of cytoplasmic CD3 ϵ proteins in activated human adult natural killer (NK) cells and CD3 γ , δ , ϵ complexes in fetal NK cells. Implications for the relationship of NK and T lymphocytes. *J Immunol* 1992;149:1876-80.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 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	
 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsweisung beachten	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis	

Revision 2017.02