

**Monoclonal Mouse
Anti-Human
Terminal Deoxynucleotidyl Transferase/FITC**
Clone HT-6

Nr kat. F7139

Przeznaczenie

Do badań diagnostycznych in vitro.

Odczynnik F7139 jest przeznaczony do użytku w cytometrii przepływowej. Terminalna transferaza deoksynukleotydowa (TdT) to zatwierdzony marker wewnątrzkomórkowy niedojrzałych limfocytów w układzie krwiotwórczym (1), uważany za istotny we wstępnej ocenie ostrych białaczek wraz z panelem innych przeciwciał (1, 2, 3). Interpretacja wyników musi zostać przeprowadzona przez certyfikowanego specjalistę z uwzględnieniem historii choroby pacjenta i wyników innych badań diagnostycznych.

**Streszczenie i
informacje
ogólne**

Transferaza TdT jest białkiem o masie cząsteczkowej 58 kDa (2), katalizującym polimeryzację deoksynukleotydów na końcu 3'-hydroksylowym polideoksynukleotydu bez udziału matrycy (3, 4). Transferaza TdT jest obecna w jądrach prekursorów limfocytów T i B i w ich nowotworowych odpowiednikach (5). Komórki wykazujące dodatni odczyn są obecne w prawidłowej grasicy i niektórych prawidłowych komórkach szpiku kostnego, odpowiadających prekursorom krwiotwórczym (2). Ekspresja transferazy jest wykazywana w większości przypadków białaczki ALL oraz w 37% przypadków białaczki AML (3).

**Dostarczony
odczynnik**

F7139 to oczyszczone mysie przeciwciało monoklonalne skoniugowane z izomerem 1 izotiocyanianu fluoresceiny (FITC). Koniugat jest dostarczany w postaci ciekłej w buforze zawierającym albuminę surowicy bydlęcej (BSA) w stężeniu 1% oraz 15 mmol/L NaN_3 , pH 7,2. Każda fiolka zawiera 50 testów (10 μL koniugatu dla nawet 10^6 komórek MOLT-4).

Izotyp: IgG1, kappa. Stężenie koniugatu w mg/L: patrz etykieta na fiolce.

Nr kat. przeciwciała	Fluorochrom	Nr kat. kontroli ujemnej
F7139	FITC (izotiocyanian fluoresceiny – izomer 1)	X0927

Immunogen

Oczyszczona transferaza TdT wyizolowana z ludzkich komórek białaczkowych (przełom blastyczny w białaczkach CML).

Swoistość

Komórki znakowane przeciwciałem wykazują odczyn ograniczony do jądra.

Przeciwciało przeciwko TdT, HT-6, znakuje komórki MOLT-3 i MOLT-4 (obie linie niedojrzałych limfocytów T pochodzące z ALL, o których wiadomo, że wykazują ekspresję TdT) (6).

W cytometrii przepływowej przeciwciało przeciwko TdT, HT-6, wykazuje wysoką ekspresję w przypadkach ostrych chłoniaków i niższą ekspresję w przypadkach białaczek szpikowych. Przeciwciało przeciwko TdT, HT-6, wraz z innymi przeciwciałami pozwala na rozpoznanie minimalnych ilości blastów białaczkowych podczas remisji klinicznej AML (7).

**Środki
ostrożności**

1. Do stosowania przez wyszkolony personel.
2. Opisany produkt zawiera silnie toksyczny w czystej postaci związek chemiczny – azydek sodu (NaN_3). Azydek sodu zastosowany w produkcji w stężeniu, które nie jest sklasyfikowane jako niebezpieczne, może reagować z elementami kanalizacji wykonanymi z ołowiu i miedzi, powodując nagromadzenie silnie wybuchowych azydków metali. Po usunięciu spłukać dużą ilością wody, aby zapobiec nagromadzeniu się azydku metalu w kanalizacji.
3. Podobnie jak w przypadku wszelkich materiałów pochodzących ze źródeł biologicznych, należy stosować właściwe procedury postępowania.
4. W celu uniknięcia kontaktu z oczami i skórą należy nosić odpowiednie osobiste wyposażenie ochronne.
5. Niewykorzystany roztwór usuwać zgodnie z rozporządzeniami lokalnymi, wojewódzkimi i krajowymi.

Przechowywanie

Przechowywać w zaciemnionym miejscu w temperaturze 2–8°C. Nie należy używać odczynników po upływie terminu ważności podanego na fiolce. Jeśli odczynniki są przechowywane w warunkach innych niż podane powyżej, użytkownik powinien zweryfikować te warunki. Nie ma wyraźnych oznak wskazujących na niestabilność produktu. Dlatego jednocześnie z badaniem próbek pochodzących od pacjenta należy wykonywać kontrole dodatnie i ujemne. W przypadku uzyskania nieoczekiwanego wyniku odczynu, którego nie można wyjaśnić różnicami w procedurach laboratoryjnych, i gdy podejrzewa się problem z przeciwciałem, należy skontaktować się z naszym działem wsparcia technicznego.

Procedura barwienia










1. Przenieść 50 μL (nawet do 10^6 komórek) zawiesiny komórkowej do analizy (pełna krew, szpik kostny lub komórki jedonajdrzaste) do próbówki.
2. Dodać 100 μL odczynnika Dako IntraStain, Reagent A (utwalacz), nr kat. K2311. Ostrożnie wymieszać na worteksie do uzyskania zawiesiny komórek.
3. Inkubować w temperaturze pokojowej przez 15 minut.
4. Dodać 2 μL PBS i ostrożnie wymieszać na worteksie.
5. Wirować z przyspieszeniem 300 x g przez 5 minut, a następnie pobrać supernatant, pozostawiając ok. 50 μL płynu.
6. Wymieszać dokładnie na worteksie w celu utworzenia zawiesiny komórkowej, a następnie dodać 100 μL odczynnika Dako IntraStain, Reagent B (Permeabilisation), nr kat. K2311. Dodać 10 μL F7139. Ostrożnie wymieszać na worteksie do uzyskania zawiesiny komórek.
7. Użyć niereaktywnego przeciwciała monoklonalnego tego samego izotypu i skoniugowanego z takim samym fluorochromem jako kontrolę ujemną (patrz tabela).
8. Inkubować w zaciemnionym miejscu, w temperaturze pokojowej przez 15 minut.
9. Powtórzyć kroki 4 i 5.
10. Ponownie utworzyć zawiesinę komórkową w odpowiednim płynie do cytometrii przepływowej, np. 0,3 mL paraformaldehydu w stężeniu 1% (utwalacz) w 0,01 mol/L PBS, pH 7,4.
11. Wykonać analizę na cytometrze przepływowym.

Zaleca się wykonanie odpowiedniej próbki kontroli dodatniej i ujemnej do każdego zadania dla kontroli odczynnika i kontroli przygotowawczej. Należy pamiętać, że koniugaty fluorochromu są wrażliwe na światło i w związku z tym próbki należy przed nim chronić podczas procesu barwienia i do momentu analizy.

Piśmiennictwo

1. Bollum FJ. Terminal deoxynucleotidyl transferase as a hematopoietic cell marker [Review]. Blood 1979;54:1203-15.
2. Terminal Deoxynucleotidyl Transferase (TdT). In: Leong AS-Y, Cooper K, Leong FJW-M, editors. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Oxford University Press; 2003. p. 413-5.
3. Erber WN, Mason DY. Immunoalkaline phosphatase labeling of terminal transferase in hematologic samples. Am J Clin Pathol 1987;88:43-50.
4. Bearman RM, Winberg CD, Maslow WC, Racklin B, Carlson F, Nathwani BN, et al. Terminal deoxynucleotidyl transferase activity in neoplastic and nonneoplastic hematopoietic cells. Am J Clin Pathol 1981;75:794-802.
5. Adriaansen HJ, Hooijkaas H, Kappers-Klunne MC, Hählen K, van't Veer MB, van Dongen JJM. Double marker analysis for terminal deoxynucleotidyl transferase and myeloid antigens in acute nonlymphocytic leukemia patients and healthy subjects. Hematol. Blod Transfus. 1990;33:41-9.
6. T-cell leukemia and T-cell lymphoma cell lines. In: Drexler HG, editor. The leukemia-lymphoma cell line factsbook. San Diego, San Francisco, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo: Academic Press; 2001. p. 387-8.
7. Paietta E, Meenan B, Heavey C, Thomas D. Detection of Terminal Transferase in Acute Myeloid Leukemia by Flow Cytometry. Cytometry 1994;16:256-61.

Objaśnienia symboli

 REF	Numer katalogowy	 2°C - 8°C	Ograniczenie temperatury		Zużyć przed
 IVD	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro		Chronić przed światłem słonecznym (patrz część dotycząca przechowywania)		Producent
	Sprawdzić w instrukcji obsługi	 LOT	Numer partii	 EC REP	Autoryzowany przedstawiciel w Unii Europejskiej



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.
No. 1 Yishun Avenue 7
Singapore, 768923
Tel. +44 161 492 7050
www.agilent.com

Wersja 11.2020