

**Monoclonal Mouse  
Anti-Human  
Terminal Deoxynucleotidyl Transferase/FITC**  
Clone HT-6  
Code F7139

**ENGLISH**

**Intended use** For in vitro diagnostic use.  
F7139 is intended for use in flow cytometry. Terminal deoxynucleotidyl Transferase (TdT) is accepted as an intracellular marker for immature lymphocytes in the hemopoietic system (1) and is considered essential for the initial evaluation of acute leukaemia's together with a panel of other antibodies (1, 2, 3). Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.

**Summary and explanation** TdT is a 58 kDa protein (2) that catalyses the polymerisation of deoxynucleotides on the 3' hydroxyl end of a polydeoxynucleotide without template instructions (3, 4). TdT is present in the nuclei of normal T and B lymphocyte precursors and the neoplastic equivalent (5). Positive cells are present in normal thymus, and in few normal bone marrow cells, corresponding to hemopoietic precursors (2). Most cases of ALL are TdT positive, 37 % of AML cases are TdT positive (3).

**Reagent provided** F7139, is a purified monoclonal mouse antibody conjugated with Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1 (FITC). The conjugate is provided in liquid form in buffer containing 1% bovine serum albumin (BSA) and 15 mmol/L NaN<sub>3</sub>, pH 7.2. Each vial contains 50 tests (10 µL of conjugate for up to 10<sup>6</sup> MOLT-4 cells).  
Isotype: IgG1, kappa. Conjugate concentration mg/L: See label on vial.

Antibody Code	Fluorochrome	Negative Control Code
F7139	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X0927

**Immunogen** Purified TdT isolated from human leukaemia cells (CML-blast crisis).

**Specificity** Cells labelled by the antibody display staining confined to the nucleus.  
Anti-TdT, HT-6, labels MOLT-3 and MOLT-4 cells (both immature T-cell lines derived from ALL, known to be TdT positive) (6).  
In flow cytometry Anti-TdT, HT-6, demonstrates high expression in acute lymphoid and lower expression in myeloid leukaemia's. Anti-TdT, HT-6, together with other antibodies allows for the recognition of minimal leukemic blasts during clinical remission in AML (7).

**Precautions**

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN<sub>3</sub>), 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.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. 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 our Technical Services.

**Staining procedure**

1. Transfer 50 µL (up to 10<sup>6</sup> cells) of the cell suspension to be analysed (whole blood, bone marrow or mononuclear cells) to a test tube.
2. Add 100 µL Dako IntraStain, Reagent A (Fixation), Code K2311. Mix gently by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension.
3. Incubate at room temperature for 15 minutes.
4. Add 2 mL PBS and mix gently by using a vortex mixer.
5. Centrifuge at 300 x g for 5 minutes, then aspirate the supernatant, leaving approximately 50 µL of fluid.
6. Mix thoroughly by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension and add 100 µL Dako IntraStain, Reagent B (Permeabilisation), Code K2311. Add 10 µL F7139. Mix gently by using a vortex mixer to ensure that the cells are in suspension.
7. Use a non-reactive monoclonal antibody of the same isotype, and conjugated with the same fluorochrome, as a negative control (see table).
8. Incubate in the dark at room temperature for 15 minutes.
9. Repeat steps 4 and 5.

10. Resuspend the cells in an appropriate fluid for flow cytometry, e.g. 0.3 mL 1% paraformaldehyde (fixative) in 0.01 mol/L PBS, pH 7.4.

11. Analyse on a flow cytometer

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.

**FRANÇAIS**

**Intérêt** Pour diagnostic in vitro.  
F7139 est destiné pour un usage en cytométrie en flux. La désoxynucléotidyl transférase terminale (TdT) est acceptée comme marqueur intracellulaire des lymphocytes immatures dans le système hématopoïétique (1) et elle est considérée comme essentielle pour l'évaluation initiale de la leucémie aiguë quand elle est associée à un panel d'autres anticorps (1, 2, 3). L'interprétation des résultats doit être entreprise par un professionnel certifié dans le contexte de l'historique clinique du patient et des autres examens diagnostics.

**Résumé et explication** TdT est une protéine de 58 kDa (2) qui catalyse la polymérisation de désoxynucléotides à l'extrémité 3'-hydroxyle d'un polydésoxynucléotide sans matrice (3, 4). TdT est présente dans le noyau des précurseurs des lymphocytes T et B normaux et de leurs équivalents néoplasiques (5). Des cellules positives sont présentes dans le thymus normal et dans un petit nombre de cellules de moelle osseuse normale correspondant aux précurseurs hématopoïétiques (2). La plupart des cas d'ALL sont TdT positifs, ainsi que 37 % des cas de AML (3).

**Réactif fourni** F7139 est un anticorps monoclonal de souris purifié conjugué à l'isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine (FITC). Le conjugué est fourni à l'état liquide en tampon contenant 1% d'albumine de sérum bovin (BSA) et du NaN<sub>3</sub> à 15 mmol/L, pH 7.2. Chaque flacon contient 50 échantillons (10 µL de conjugué pour doser jusqu'à 10<sup>6</sup> cellules MOLT-4).  
Isotype: IgG1, kappa. Concentration du conjugué en mg/L: Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.

Code de l'anticorps	Fluorochrome	Code du Contrôle Négatif
F7139	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X0927

**Immunogène** TdT purifiée extraite de cellules leucémiques humaines (CML en crise blastique).

**Spécificité** Les cellules marquées par l'anticorps montrent un marquage limité au noyau.  
Anti-TdT, HT-6, marque les cellules MOLT-3 et MOLT-4 (qui sont toutes deux des lignées de cellules T immatures extraites de l'ALL, qu'on sait être TdT-positives) (6).  
En cytométrie en flux, l'anticorps anti-TdT, HT-6 est fortement exprimé dans les leucémies lymphoïdes aiguës et plus faiblement dans les leucémies myéloïdes. Anti-TdT, HT-6 associé à d'autres anticorps permet de détecter les blastes leucémiques minimaux pendant les phases de rémission clinique dans les cas d'AML (7).

**Précautions d'emploi**

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>), un produit chimique hautement toxique sous forme pure. Aux concentrations du produit, bien qu'il ne soit pas classé comme étant nuisible, l'azide de sodium peut réagir avec la tuyauterie en plomb et en cuivre pour former des dépôts hautement explosifs d'azides métallisés. Lors de l'élimination du produit, laisser couler l'eau à flot pour éviter toute accumulation d'azides métallisés dans la tuyauterie.
3. Comme pour tout dérivé biologique dangereux à manipuler, une précision s'impose.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

**Conservation** Conserver à l'obscurité entre 2° et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption mentionnée sur le flacon. Si les réactifs ont été conservés dans d'autres conditions que celles spécifiées, ces conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles doivent être opérés simultanément avec les échantillons du patient. En cas de résultats imprévus qui ne peuvent pas être expliqués par des changements de procédures de laboratoire et qu'un problème avec le produit est suspecté, contactez nos Services Techniques.

**Procédure d'immunomarquage**

1. Transférer 50 µL (jusqu'à 10<sup>6</sup> cellules) de suspension cellulaire à analyser (sang entier, moelle osseuse ou cellules mononucléaires) dans un tube à essai.
2. Ajouter 100 µL Dako IntraStain Reagent A (Fixation), code. K2311. Mélanger doucement dans un mélangeur vortex pour assurer que les cellules restent en suspension.
3. Incuber à température ambiante pendant 15 minutes.
4. Ajouter 2 mL PBS et mélanger soigneusement à l'aide d'un mélangeur vortex.
5. Centrifuger à 300 x g pendant 5 minutes, puis aspirer le surnageant en laissant environ 50 µL de liquide.
6. Bien mélanger dans un mélangeur vortex pour assurer que les cellules restent en suspension et ajoutez 100 µL Dako IntraStain, Reagent B (Permeabilisation), code. K2311. Ajouter 10 µL F7139. Mélanger délicatement dans un mélangeur vortex pour assurer que les cellules restent en suspension.
7. Utiliser un anticorps monoclonal non-réactif du même isotype, conjugué au même fluorochrome, en tant que contrôle négatif (voir tableau).
8. Laisser incuber à l'obscurité, à température ambiante, pendant 15 minutes.

9. Recommencer les étapes 4 et 5.
10. Re-suspendre les cellules dans un liquide adapté à la cytométrie en flux, par exemple 0,3 mL de paraformaldéhyde à 1% (fixateur) dans du PBS 0,01 mol/L, à 7,4 de pH.
11. Analyser sur un cytomètre en flux.

Il est recommandé d'inclure un contrôle positif et négatif adéquats à chaque technique pour contrôler le réactif et la préparation. Noter que les conjugués fluorochromes sont sensibles à la lumière, et les échantillons doivent être protégés de cette dernière au cours de la procédure d'immunomarquage et jusqu'à l'analyse.

## DEUTSCH

**Zweckbestimmung** Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen.  
F7139 ist für den durchflusszytometrischen Gebrauch bestimmt. Terminal deoxynucleotidyl Transferase (TdT) wird als intrazellulärer Marker für unreife Lymphozyten im hämatopoetischen System (1) anerkannt und wird zusammen mit einem Panel weiterer Antikörper als wesentlich bei der initialen Bewertung akuter Leukämien angesehen (1, 2, 3). Die Befunde müssen unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren von einem zertifizierten Facharzt interpretiert werden.

**Zusammenfassung und Erklärung** TdT ist ein 58 kDa-Protein (2), das die Polymerisation von Desoxynukleotiden am 3'-Hydroxyl-Ende eines Polydesoxynukleotids ohne Matrizenanweisungen katalysiert (3, 4). TdT liegt im Nukleus normaler T- und B-Lymphozytenvorläufer und dem neoplastischen Äquivalent vor (5). Positive Zellen kommen in normalen Thymuszellen und in einigen normalen Knochenmarkzellen entsprechend der hämatopoetischen Vorläuferzellen vor (2). Die meisten ALL-Fälle sind TdT-positiv, und 37% der AML-Fälle sind TdT-positiv (3).

**Geliefertes Reagenz** F7139 ist ein mit Fluorescein-Isothiocyanat, Isomer 1, (FITC) konjugierter, gereinigter monoklonaler Mausantikörper. Das Konjugat wird in einer gepufferten Lösung mit 1% bovinem Serumalbumin (BSA) und 15 mmol/L Na<sub>3</sub>, pH 7,2, geliefert. Jedes Fläschchen ist ausreichend für 50 Tests (10 µL des Konjugats sind ausreichend für bis 10<sup>6</sup> MOLT-4-Zellen).

Isotyp: IgG1, Kappa. Konjugat-Konzentration mg/L: Siehe Produktetikett.

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F7139	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X0927

**Immunogen** Gereinigtes TdT, aus menschlichen Leukämiezellen isoliert (CML-Blastenkrise).

**Spezifität** Durch den Antikörper markierte Zellen weisen eine Färbung auf, die auf den Zellkern beschränkt ist.  
Anti-TdT, HT-6, markiert MOLT-3- und MOLT-4-Zellen (beide unreife T-Zelllinien, die aus ALL abgeleitet werden, und bekanntermaßen TdT-positiv sind) (6).  
In der Durchflusszytometrie zeigt Anti-TdT, HT-6, starke Expression bei akuten lymphoiden Leukämien und schwächere Expression bei myeloischen Leukämien. Anti-TdT, HT-6, ermöglicht zusammen mit anderen Antikörpern die Feststellung minimaler leukämischer Blasten während der klinischen Remission bei AML (7).

**Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen**

1. Für geschultes Fachpersonal.
2. Dieses Produkt enthält Natrium-Azid (Na<sub>3</sub>N), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natrium-Azid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metall-Azid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
3. Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.
4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

**Lagerung** Im Dunkeln bei 2 – 8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Produkt angegebenen Verfallsdatum verwenden. Falls die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt werden, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produktes. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Wenn unerwartete Verfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit unserem technischen Kundendienst aufzunehmen.

**Färbeprozedur**

1. 50 µL (bis 10<sup>6</sup> Zellen) aus der zu untersuchenden Zellsuspension (Vollblut, Knochenmark oder mononukleäre Zellen) in ein Probenröhrchen geben.
2. 100 µL Dako IntraStain Reagent A (Fixation), Code-Nr. K2311, hinzufügen. Vorsichtig in einem Vortex-Mixer mischen, um sicherzustellen, dass die Zellen suspendiert sind.
3. 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
4. 2 ml PBS zufügen und vorsichtig im Vortex-Mixer mischen.
5. 5 Minuten lang bei 300 x g zentrifugieren, dann den Überstand aspirieren, so dass ungefähr 50 µL zurückbleiben.
6. Mit einem Vortexmixer gründlich mischen, um sicherzustellen, dass alle Zellen suspendiert sind, und 100 µL Dako IntraStain, Reagens B (Permeabilisation), Code-Nr. K2311, hinzugeben. 10 µL F 7139 zusetzen. Vorsichtig in einem Vortex-Mixer mischen, um sicherzustellen, dass die Zellen suspendiert sind.









7. Als Negativkontrolle einen nicht reaktiven, monoklonalen Antikörper des gleichen Isotyps, konjugiert an dasselbe Fluorochrom, verwenden (s. Tabelle).
8. Im Dunkeln bei Raumtemperatur 15 Minuten lang inkubieren.
9. Schritte 4 und 5 wiederholen.
10. Die Zellen in einer für Durchflusszytometrie geeigneten Flüssigkeit, z. B. 0,3 ml 1%igem Paraformaldehyd (Fixativ) in 0,01 mol/L PBS, pH 7,4, resuspendieren.
11. Im Durchflusszytometer analysieren.

Es wird empfohlen, eine geeignete Positiv- und Negativkontrolle für jede Durchführung der Reagenz- und Präparationsprüfung mitzuführen. Es ist zu beachten, dass Fluorochromkonjugate lichtempfindlich sind und dass die Proben während der Färbeprozedur und bis zur Durchführung der Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

## References/ Références/ Literatur

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.

## Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

 Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 2°C – 8°C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Keep away from sunlight (consult storage section) Conserver à l'écart du soleil (se reporter à la section conservation) Lichtgeschützt lagern (siehe Abschnitt zur Lagerung)	 Manufacturer Fabricant Hersteller
 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	