



cFluor[®] Anti-Human CD117 (104D2)

Gebrauchsanleitung

Bestellnr.	Test/Fläschchen	Produktbezeichnung
R7-11023	100	cFluor [®] BYG610 Anti-Human CD117 (104D2)
R7-11024	25	cFluor [®] BYG610 Anti-Human CD117 (104D2)

Copyright und Warenzeichen

© 2022 Cytel Biosciences, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Cytel, das Cytel-Logo, cFluor und Northern Lights sind Warenzeichen oder eingetragene Warenzeichen von Cytel Biosciences, Inc. Alle anderen Dienstleistungsmarken, Warenzeichen und Handelsnamen sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.



Cytel Biosciences, Inc.
47215 Lakeview Blvd.
Fremont, CA 94538
USA
+1.877.92.CYTEK (+1.877.922.9835)

products@cytekbio.com
cytekbio.com



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP Den Haag
Niederlande

1. Verwendungszweck

Dieses Produkt ist für die Verwendung in der In-vitro-Diagnostik zur Identifizierung menschlicher Zellen mit Expression von CD117-Antigenmolekülen in Ländern bestimmt, in denen die Genehmigung der örtlichen Aufsichtsbehörden vorliegt.

2. Anwendung

Der monoklonale Antikörper 104D2 bindet an humanes CD117, eine Proteintyrosinkinase mit 145 kDa. CD117 oder c-kit ist der Rezeptor für den hämatopoetischen Zytokin-Stammzellfaktor (SCF, c-kit-Ligand), der auf Untergruppen hämatopoetischer Vorläuferzellen, Thymozyten, Mastzellen, Hepatozyten und Histiozyten exprimiert wird. Es ist häufig auch bei akuter myeloischer Leukämie (AML) exprimiert. Nach Bindung seines Liganden SCF aktiviert CD117 die Tyrosinkinase und spielt eine Rolle beim Überleben, der Proliferation und der Differenzierung von Zellen. Der Antikörper ist an einen Fluorophor konjugiert und wurde mittels Affinitätschromatographie gereinigt.

3. Komponenten

Der mit den nachfolgend aufgeführten cFluor-Fluoreszenzfarbstoffen konjugierte monoklonale Anti-CD117-Antikörper wird in phosphatgepufferter Kochsalzlösung, pH 7,2, mit 0,09 % Natriumazid und 0,2 % BSA (BSA-Herkunftsland: USA) geliefert.

Antikörperspezifität	CD117
Klon	104D2
Immunglobulin-Subtyp	IgG1, kappa
Spezies und Gattung	Maus
Fluoreszenzfarbstoff	cFluor® BYG610 ¹
Anregungswellenlänge	488 nm
Emissionspeak	610 nm

4. Lagerung und Handhabung

Dieses Produkt ist bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil, wenn es lichtgeschützt bei 2–8 °C gelagert wird. Nicht einfrieren.

5. Zusätzlich erforderliches Material

- ERY-Lysierungslösung
- Pipetten und Pipettenspitzen für 20 µl, 100 µl und 1000 µl
- 12 x 75 mm-Röhrchen
- Vortexmischer
- Durchflusszytometer

6. Anforderungen an das Probenmaterial

- 1 Es sind mindestens 500 µl peripheres Blut erforderlich, das durch Venenpunktion in ein EDTA-Antikoagulationsröhrchen entnommen wurde.
- 2 Nach der Entnahme sollten die Proben bei Raumtemperatur (18–25 °C) gelagert werden. Schütteln vermeiden. Nicht länger als 24 Stunden lagern.
- 3 Nach dem Färben sollten die Proben bei 2–8 °C vor Licht geschützt gelagert und innerhalb von 2 Stunden im Durchflusszytometer analysiert werden.
- 4 Möglichst keine Proben mit mikrobieller Kontamination oder Koagulation verwenden.

7. Verfahren

- 1 100 µl gut gemischtes, mit EDTA antikoaguliertes Vollblut auf den Boden eines Röhrchens pipettieren. Es sollte nach Möglichkeit kein Blut an die obere Wand des Röhrchens gelangen.
- 2 Dieses Produkt vor dem Gebrauch kurz zentrifugieren. 5 µl des cFluor-konjugierten Anti-CD117-Reagenzes auf den Boden des Röhrchens pipettieren.
- 3 Gut auf dem Vortex mischen und 15–30 Minuten vor Licht geschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
- 4 2 ml 1 X Lysepuffer in das Röhrchen geben, kurz auf dem Vortex mischen und 10–15 Minuten vor Licht geschützt bei Raumtemperatur inkubieren.
- 5 Bei 300g 5 Minuten zentrifugieren und den Überstand verwerfen. Anschließend 2 ml PBS mit 0,02 % BSA und 0,09 % NaN₃ zugeben, um die Zellen zu resuspendieren.
- 6 Bei 300g 5 Minuten zentrifugieren und den Überstand verwerfen. Anschließend 300 µl PBS mit 0,02 % BSA und 0,09 % NaN₃ zugeben, um die Zellen zu resuspendieren. Den Ansatz bei 4 °C aufbewahren und innerhalb von 2 Stunden im Durchflusszytometer analysieren. Wenn sich die Analyse verzögert (um mehr als 2 Stunden), sollten 300 µl PBS mit 1 % Paraformaldehyd verwendet werden, um die Zellen zu resuspendieren. Die Probe anschließend bei 2–8 °C vor Licht geschützt im Kühlschrank lagern (nicht länger als 24 Stunden).

8. Qualitätskontrolle

- Geräte-QK: Es sind die vom Hersteller empfohlenen, dem Modell des Durchflusszytometers entsprechenden Kontrollen zu verwenden.
- Hinsichtlich der Gerätewartung ist die Gebrauchsanleitung für das Gerät zu beachten.

9. Warnhinweise

- Dieses Reagenz enthält Spuren von Natriumazid. Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Bei der Verwendung dieses Produkts geeignete persönliche Schutzausrüstung gemäß dem Sicherheitsdatenblatt verwenden.
- Beim Umgang mit allen biologischen Proben und Materialien, die damit in Kontakt kommen, die Biosicherheitsmaßnahmen in Übereinstimmung mit allen geltenden Vorschriften befolgen.
- Wenden Sie sich für Details zur Fehlerbehebung an den Kundendienst von Cytex oder besuchen Sie cytekbio.com.

10. Leistungsmerkmale

10.1. Richtigkeit

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit dem cFluor-konjugierten Anti-CD117-Reagenz gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Die Ergebnisse zum prozentualen Anteil der CD117⁺-Zellen lagen in dem von Cytek festgelegten Zielbereich.

Probe: Normales Blut plus CD117 ⁺ -Zellen	Prozentualer Anteil der CD117 ⁺ -Zellen				
CD117-Fluoreszenzfarbstoff	R1	R2	R3	Mittelwert	Zielwertbereich
cFluor BYG610	23,3	20,2	22,3	21,9	19,9–29,9

10.2. Intra-Chargen-Präzision

Es wurden zehn Replikat-Röhrchen mit derselben Charge des cFluor-konjugierten Anti-CD117-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Variationskoeffizient (VK) des prozentualen Anteils der CD117⁺-Zellen lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: Normales Blut plus CD117 ⁺ -Zellen	Prozentualer Anteil der CD117 ⁺ -Zellen		
CD117-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	% VK	Kriterium
cFluor BYG610	21,7	5,27	VK ≤ 15 %

10.3. Inter-Chargen-Präzision

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit drei Chargen des cFluor-konjugierten Anti-CD117-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Variationskoeffizient (VK) des prozentualen Anteils der CD117⁺-Zellen lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: Normales Blut plus CD117 ⁺ -Zellen	Prozentualer Anteil der CD117 ⁺ -Zellen		
CD117-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	% VK	Kriterium
cFluor BYG610	21,5	5,97	VK ≤ 15 %

10.4. Stabilität der Färbung

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit der gleichen Charge des cFluor-konjugierten CD117-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer zu folgenden Zeitpunkten analysiert: innerhalb von 2 Stunden (T0), 24 Stunden und 48 Stunden nach dem Färben. Der prozentuale Anteil der CD117⁺-Zellen zu jedem Zeitpunkt wurde mit dem Wert bei T0 verglichen, und die berechnete mittlere relative Differenz lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: Normales Blut plus CD117 ⁺ -Zellen	Prozentualer Anteil der CD117 ⁺ -Zellen			
	Durchschnitt (%)	Relative Differenz vs. 2 Std.		Kriterium
CD117-Fluoreszenzfarbstoff		24 Std.	48 Std.	Relative Differenz ≤ 20 %
cFluor BYG610	21,9	6,08 %	13,61 %	

11. Einschränkungen

- 1 Dieses Reagenz kann mit einem Durchflusszytometer verwendet werden und wird nicht für die Fluoreszenzmikroskopie und die Immunhistochemie empfohlen.
- 2 Bei diesem Reagenz handelt es sich um ein fluoreszenzmarkiertes Produkt, dessen Fluoreszenz sich bei längerer Lichteinwirkung rasch verringert. Die Handhabung des Reagenzes sollte daher vor Licht geschützt erfolgen.
- 3 Die Nichteinhaltung des oben beschriebenen Lyse-Waschverfahrens könnte sich negativ auf die Eigenschaften des Reagenzes auswirken.
- 4 Die Ergebnisse können durch unsachgemäße Lagerung von Reagenzien und/oder Proben, die Gerinnung von Proben oder eine unvollständige Lyse der Erythrozyten in den Proben beeinträchtigt werden.
- 5 Die Testergebnisse bei Verwendung dieses Reagenzes dienen lediglich als klinische Referenz. Für eine Diagnose sind außerdem die Krankengeschichte, die Ergebnisse anderer Labortests und das Ansprechen auf die Behandlung zu berücksichtigen.

12. Literatur

- Simmons PJ, et al. 1994. Exp Hematol. 22(2):157-165.
- Escribano L, et al. 1998. Leuk Lymphoma. 30(5-1): 459–466.
- Blume-Jensen P, et al. 1991. EMBO J. 10(13): 4121–4128.

¹cFluor® BYG610 ist ein R-PE-Tandemkonjugat. Achtung: Tandemkonjugate können bei längerer Einwirkung von Licht oder Fixiermitteln Änderungen in ihren Emissionsspektren aufweisen.