



cFluor[®] Anti-Human CD117 (104D2)

Istruzioni per l'uso

| Numero di catalogo | Test/flaconcino | Nome prodotto |
|--------------------|-----------------|---|
| R7-11023 | 100 | cFluor [®] BYG610 Anti-Human CD117 (104D2) |
| R7-11024 | 25 | cFluor [®] BYG610 Anti-Human CD117 (104D2) |

Copyright e marchi commerciali

© 2022 Cytek Biosciences, Inc. Tutti i diritti riservati. Cytek, il logo Cytek, cFluor e Northern Lights sono marchi commerciali o marchi registrati di Cytek Biosciences, Inc. Tutti gli altri marchi di servizio, marchi e nomi commerciali appartengono ai rispettivi proprietari.



Cytek 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 L'Aia
Paesi Bassi

1. Uso previsto

Questo prodotto è destinato all'uso diagnostico in vitro per l'identificazione delle cellule umane che esprimono le molecole dell'antigene CD117 nei Paesi in cui è stata rilasciata l'approvazione normativa da parte delle autorità di regolamentazione locali.

2. Applicazione

L'anticorpo monoclonale 104D2 si lega al CD117 umano, una tirosin-chinasi di 145 kDa. Il CD117, noto anche come "c-kit", è il recettore per la citochina ematopoietica SCF (stem cell factor, fattore delle cellule staminali) espresso su sottoinsiemi di cellule progenitrici ematopoietiche, timociti, mastociti, epatociti e istiociti. È anche comunemente espresso nelle leucemie mieloidi acute (LMA). Quando si lega al fattore delle cellule staminali (ligando c-kit), il CD117 attiva la tirosin-chinasi ed è coinvolto nella sopravvivenza, proliferazione e differenziazione cellulare. L'anticorpo è coniugato con un fluoroforo e purificato mediante cromatografia di affinità.

3. Componenti

L'anticorpo monoclonale CD117 coniugato con il seguente colorante fluorescente cFluor viene fornito in soluzione salina tampone fosfato, pH 7,2, contenente lo 0,09% di azoturo di sodio e lo 0,2% di BSA (Paese di origine della BSA: Stati Uniti d'America).

| | |
|---------------------------------|-----------------------------|
| Specificità anticorpale | CD117 |
| Clone | 104D2 |
| Sottotipo di immunoglobulina | IgG1, kappa |
| Specie e genere | Topo |
| Colorante fluorescente | cFluor® BYG610 ¹ |
| Lunghezza d'onda di eccitazione | 488 nm |
| Picco di emissione | 610 nm |

4. Conservazione e manipolazione

Questo prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta se conservato al riparo dalla luce a 2 - 8 °C. Non congelare.

5. Altri materiali necessari, ma non forniti

- Soluzione lisante per globuli rossi
- Pipette e puntali da 20 µL, 100 µL e 1000 µL
- Provetta da 12x75 mm
- Miscelatore a vortice
- Citometro a flusso

6. Requisiti del campione

- 1 Si richiede sangue periferico in quantità non inferiore a 500 µL raccolto mediante venipuntura in una provetta con anticoagulante EDTA.
- 2 Dopo il prelievo, i campioni devono essere conservati a temperatura ambiente (18 - 25 °C). Non agitare. Il tempo di conservazione non deve superare le 24 ore.
- 3 Dopo la marcatura, i campioni devono essere conservati a 2 - 8 °C al riparo dalla luce e analizzati mediante citometria a flusso entro 2 ore.
- 4 Evitare i campioni che presentano contaminazione microbica o coagulazione.

7. Procedura

- 1 Dispensare 100 µL di sangue intero anticoagulato con EDTA ben miscelato sul fondo di una provetta. Evitare che il sangue tocchi la parete superiore della provetta.
- 2 Centrifugare brevemente il prodotto prima dell'uso. Aggiungere 5 µL di reagente CD117-cFluor coniugato sul fondo della provetta.
- 3 Mescolare bene con il vortex e incubare per 15 - 30 minuti a temperatura ambiente e al riparo dalla luce.
- 4 Aggiungere 2 mL di tampone di lisi 1X nella provetta, mescolare brevemente con il vortex e incubare per 10 - 15 minuti a temperatura ambiente al buio.
- 5 Centrifugare a 300 g per 5 minuti, scartare il surnatante, aggiungere 2 mL di PBS con lo 0,02% di BSA e lo 0,09% di NaN₃ per risospendere le cellule.
- 6 Centrifugare a 300 g per 5 minuti, scartare il surnatante, aggiungere 300 µL di PBS con lo 0,02% di BSA e lo 0,09% di NaN₃ per risospendere le cellule e tenere a 4 °C, quindi analizzare con il citometro a flusso entro 2 ore. Se è necessario rimandare l'analisi (di oltre 2 ore), risospendere le cellule con 300 µL di PBS contenente l'1% di paraformaldeide e conservare il campione in frigorifero a 2 - 8 °C al riparo dalla luce. Il tempo di conservazione non deve tuttavia superare le 24 ore.

8. Controllo qualità

- Controllo qualità dello strumento: utilizzare i controlli raccomandati dal produttore in base al modello del citometro a flusso.
- Consultare la Guida per l'operatore dello strumento per la manutenzione.

9. Avvertenze

- Questo reagente contiene tracce di azoturo di sodio. Non pipettare con la bocca.
- Durante l'uso del prodotto, adottare dispositivi di protezione individuale appropriati attenendosi a quanto indicato nella scheda di sicurezza.
- Seguire le pratiche di biosicurezza in conformità alle normative federali, statali e locali per maneggiare tutti i campioni biologici e i materiali a contatto con essi.
- Contattare l'assistenza Cytex o visitare cytekbio.com per dettagli sulla risoluzione dei problemi.

10. Caratteristiche delle prestazioni

10.1. Accuratezza

Tre provette di replicati sono state colorate con reagente CD117-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. I risultati della percentuale di cellule CD117+ rientravano nell'intervallo target stabilito da Cytek.

| Campione: sangue normale più cellule CD117+ | Percentuale di cellule CD117+ | | | | |
|---|-------------------------------|------|------|-------|-----------------------------|
| Colorante fluorescente CD117 | R1 | R2 | R3 | Media | Intervallo di valori target |
| cFluor BYG610 | 23,3 | 20,2 | 22,3 | 21,9 | 19,9 - 29,9 |

10.2. Precisione intra-lotto

Dieci provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di reagente CD117-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. Il CV della percentuale di cellule CD117+ è stato calcolato e rientrava nei criteri di accettazione.

| Campione: sangue normale più cellule CD117+ | Percentuale di cellule CD117+ | | |
|---|-------------------------------|------|---------|
| Colorante fluorescente CD117 | Media (%) | % CV | Criteri |
| cFluor BYG610 | 21,7 | 5,27 | CV ≤15% |

10.3. Precisione tra lotti

Tre provette di replicati sono state colorate con tre lotti di reagente CD117-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. Il CV della percentuale di cellule CD117+ è stato calcolato e rientrava nei criteri di accettazione.

| Campione: sangue normale più cellule CD117+ | Percentuale di cellule CD117+ | | |
|---|-------------------------------|------|---------|
| Colorante fluorescente CD117 | Media (%) | % CV | Criteri |
| cFluor BYG610 | 21,5 | 5,97 | CV ≤15% |

10.4. Stabilità di marcatura

Tre provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di reagente CD117-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™ nei seguenti punti temporali: entro 2 ore (T0), 24 ore e 48 ore dopo la marcatura. La percentuale di cellule CD117+ a ogni punto temporale è stata confrontata con T0 ed è stata calcolata la differenza relativa media, risultata entro i criteri di accettazione.

| Campione: sangue normale più cellule CD117+ | Percentuale di cellule CD117+ | | | |
|--|-------------------------------|------------------------------------|--------|-----------------------------|
| Colorante fluorescente CD117 | Media (%) | Differenza relativa rispetto a 2 H | | Criteri |
| | | 24 H | 48 H | Differenza relativa ≤20% |
| cFluor BYG610 | 21,9 | 6,08% | 13,61% | |

11. Limitazioni

- 1 Questo reagente può essere utilizzato con un citometro a flusso ed è sconsigliato per la microscopia a fluorescenza e l'immunoistochimica.
- 2 Questo reagente è un prodotto etichettato come fluorescente. Si estingue facilmente con un'esposizione prolungata alla luce e deve essere maneggiato lontano dalla luce stessa.
- 3 La mancata esecuzione della procedura di lyse wash descritta in precedenza può compromettere le prestazioni del reagente.
- 4 I risultati possono essere influenzati dall'errata conservazione dei reagenti, dalla coagulazione dei campioni, dall'errata conservazione dei campioni o dalla lisi incompleta dei globuli rossi nei campioni.
- 5 I risultati dei test condotti con questo reagente devono essere usati esclusivamente come riferimento clinico. Ai fini della diagnosi è necessario considerare anche l'anamnesi del paziente, altri test di laboratorio e la risposta al trattamento.

12. Bibliografia

- 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 è un colorante tandem realizzato con R-PE. Attenzione: a seguito dell'esposizione prolungata alla luce o ai fissativi, i coloranti tandem possono mostrare variazioni degli spettri di emissione.