



# cFluor<sup>®</sup> Anti-Human CD117 (104D2)

## Mode d'emploi

Référence	Essais/flacon	Nom du produit
R7-11023	100	cFluor <sup>®</sup> BYG610 Anti-Human CD117 (104D2)
R7-11024	25	cFluor <sup>®</sup> BYG610 Anti-Human CD117 (104D2)

## Droits d'auteur et marques commerciales

© 2022 Cytex Biosciences, Inc. Tous droits réservés. Cytex, le logo Cytex, cFluor et Northern Lights sont des marques commerciales ou déposées de Cytex Biosciences, Inc. Toutes les autres marques de service, toutes les marques commerciales et tous les noms de marque sont détenus par leurs propriétaires respectifs.



Cytex Biosciences, Inc.  
47215 Lakeview Blvd.  
Fremont, CA 94538  
États-Unis  
1 877 92-CYTEK (1 877 922-9835)

products@cytekbio.com  
cytekbio.com



Emergo Europe  
Prinsessegracht 20  
2514 AP La Haye  
Pays-Bas

## 1. Utilisation prévue

Ce produit est destiné à une utilisation diagnostique *in vitro* pour l'identification des cellules humaines exprimant des molécules d'antigène CD117 dans les pays où l'approbation réglementaire a été obtenue auprès des autorités de réglementation locales.

## 2. Application

L'anticorps monoclonal anti-104D2 se lie à la molécule CD117 humaine, une protéine tyrosine kinase de 145 kDa. La molécule CD117, aussi appelée c-kit, est le récepteur du facteur des cellules souches (FCS), une cytokine hématopoïétique, et est exprimée dans certains sous-groupes de cellules progénitrices hématopoïétiques, sur les thymocytes, les mastocytes, les hépatocytes et les histiocytes. Elle est aussi exprimée couramment sur les cellules de leucémie myéloïde aiguë (LMA). Lorsqu'elle se lie au facteur des cellules souches (ligand de c-kit), la tyrosine kinase de la molécule CD117 est activée et CD117 joue un rôle dans la survie, la prolifération et la différenciation cellulaire. L'anticorps est conjugué à un fluorophore et purifié par chromatographie d'affinité.

## 3. Composants

L'anticorps monoclonal anti-CD117 conjugué au colorant fluorescent cFluor indiqué ci-dessous est fourni dans une solution saline tamponnée au phosphate (PBS), de pH 7,2, contenant 0,09 % d'azoture de sodium et 0,2 % d'albumine de sérum bovin (BSA) (provenant des États-Unis).

Spécificité de l'anticorps	CD117
Clone	104D2
Sous-type d'immunoglobuline	IgG1, kappa
Espèce et genre	Souris
Colorant fluorescent	cFluor® BYG610 <sup>1</sup>
Longueur d'onde d'excitation	488 nm
Pic d'émission	610 nm

## 4. Stockage et manipulation

Ce produit est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'il est stocké à l'abri de la lumière entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler.

## 5. Autres consommables et accessoires requis mais non fournis

- Solution de lyse des globules rouges
- Pipettes et embouts de pipette de 20 µl, 100 µl et 1 000 µl
- Tube de 12 mm x 75 mm
- Vortex
- Cytomètre en flux

## 6. Exigences concernant les échantillons

- 1 Au moins 500 µl de sang périphérique prélevés par ponction veineuse dans un tube d'anticoagulant EDTA.
- 2 Après le prélèvement, les échantillons doivent être conservés à température ambiante (entre 18 et 25 °C). Éviter de secouer le tube. La durée de conservation ne doit pas dépasser 24 heures.
- 3 Après la coloration, les échantillons doivent être conservés entre 2 et 8 °C à l'abri de la lumière et analysés par cytométrie en flux dans les 2 heures.
- 4 Éviter les échantillons coagulés ou présentant une contamination microbienne.

## 7. Procédure

- 1 Ajouter 100 µl de sang entier anticoagulé à l'EDTA bien mélangé au fond d'un tube. Éviter que le sang ne touche la paroi supérieure du tube.
- 2 Centrifuger brièvement le produit avant de l'utiliser. Ajouter 5 µl de conjugué anti-CD117-cFluor au fond du tube.
- 3 Bien mélanger au vortex et incuber pendant 15 à 30 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière.
- 4 Ajouter 2 ml de tampon de lyse 1 X dans le tube, mélanger brièvement au vortex, et incuber pendant 10 à 15 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière.
- 5 Centrifuger à 300 g pendant 5 minutes, jeter le surnageant, ajouter 2 ml de PBS contenant 0,02 % de BSA et 0,09 % de NaN<sub>3</sub> pour remettre les cellules en suspension.
- 6 Centrifuger à 300 g pendant 5 minutes, jeter le surnageant, ajouter 300 µl de PBS contenant 0,02 % de BSA et 0,09 % de NaN<sub>3</sub> pour remettre les cellules en suspension et conserver à 4 °C, puis analyser par cytométrie en flux dans les 2 heures. Si l'analyse doit être reportée (plus de 2 heures), ajouter 300 µl de PBS contenant 1 % de paraformaldéhyde pour remettre les cellules en suspension et conserver l'échantillon dans un réfrigérateur entre 2 et 8 °C, à l'abri de la lumière. La durée de conservation ne doit pas dépasser 24 heures.

## 8. Contrôle de qualité (CQ)

- CQ de l'instrument : utiliser les contrôles recommandés par le fabricant en fonction du modèle de cytomètre en flux utilisé.
- Se reporter au guide de l'utilisateur de l'instrument pour consulter les consignes d'entretien.

## 9. Avertissements

- Ce réactif contient des traces d'azoture de sodium. Ne pas pipeter à la bouche.
- Utiliser un équipement de protection individuelle approprié, conforme à la fiche de données de sécurité, lors de l'utilisation de ce produit.
- Suivre le protocole de biosécurité en respectant les règlements nationaux, régionaux et locaux lors de la manipulation de tous les échantillons biologiques et du matériel en contact avec ces derniers.
- Contacter le service technique de Cytex ou se reporter au site [cytekbio.com](http://cytekbio.com) pour des détails sur la résolution des problèmes.

## 10. Caractéristiques de performance

### 10.1. Exactitude

Trois réplicats ont été colorés avec le conjugué anti-CD117-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™. Les résultats en pourcentage de cellules CD117+ sont tombés dans les plages cibles établies par Cytek.

Échantillon : Sang normal plus cellules CD117+	Pourcentage de cellules CD117+				
Anti-CD117-colorant fluorescent	R1	R2	R3	Moyenne	Plage de valeurs cible
cFluor BYG610	23,3	20,2	22,3	21,9	19,9-29,9

### 10.2. Précision intra-lot

Dix réplicats ont été colorés avec le même lot de conjugué anti-CD117-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™. Le CV du pourcentage de cellules CD117+ a été calculé et se situait dans les limites des critères d'acceptation.

Échantillon : Sang normal plus cellules CD117+	Pourcentage de cellules CD117+		
Anti-CD117-colorant fluorescent	Moyenne (%)	% CV	Critères
cFluor BYG610	21,7	5,27	CV ≤ 15 %

### 10.3. Précision inter-lot

Trois réplicats ont été colorés avec trois lots de conjugué anti-CD117-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™. Le CV du pourcentage de cellules CD117+ a été calculé et se situait dans les limites des critères d'acceptation.

Échantillon : Sang normal plus cellules CD117+	Pourcentage de cellules CD117+		
Anti-CD117-colorant fluorescent	Moyenne (%)	% CV	Critères
cFluor BYG610	21,5	5,97	CV ≤ 15 %

## 10.4. Stabilité de la coloration

Trois réplicats ont été colorés avec le même lot de conjugué anti-CD117-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™ aux échéances suivantes : dans les 2 heures (T0), 24 heures et 48 heures après la coloration. À chaque échéance, le pourcentage de cellules CD117+ a été comparé à T0. La différence relative moyenne a été calculée et se situait dans les limites des critères d'acceptation.

Échantillon : Sang normal plus cellules CD117+	Pourcentage de cellules CD117+		
	Moyenne (%)	Différence relative par rapport à T0	
Anti-CD117-colorant fluorescent		24 h	48 h
cFluor BYG610	21,9	6,08 %	13,61 %

## 11. Limites du test

- 1 Ce réactif peut être utilisé avec un cytomètre en flux et n'est pas recommandé pour la microscopie par fluorescence et l'immunohistochimie.
- 2 Ce réactif est un produit marqué par fluorescence Il peut être désactivé facilement par une exposition prolongée à la lumière et doit être manipulé à l'abri de la lumière.
- 3 Les performances du réactif peuvent être compromises si le lavage suite à la lyse n'est pas effectué conformément à la méthode décrite ci-dessus.
- 4 Les résultats peuvent être affectés par un stockage non conforme des réactifs et des échantillons, la coagulation des échantillons ou une lyse incomplète des globules rouges présents dans les échantillons.
- 5 Les résultats des essais de ce réactif sont donnés à titre de référence clinique uniquement. Les antécédents du patient et d'autres examens de laboratoire, ainsi que la réponse au traitement doivent également être pris en compte pour le diagnostic.

## 12. Références

- 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.

<sup>1</sup>cFluor® BYG610 est un colorant en tandem fabriqué avec R-PE. Mise en garde : les colorants en tandem peuvent présenter des spectres d'émission différents en cas d'exposition prolongée à la lumière ou à des fixateurs.