



cFluor[®] Anti-Human CD14 (M5E2)

Istruzioni per l'uso

Numero di catalogo	Test/flaconcino	Nome prodotto
R7-11077	100	cFluor [®] V450 Anti-Human CD14 (M5E2)
R7-11078	25	cFluor [®] V450 Anti-Human CD14 (M5E2)

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 CD14 nei Paesi in cui è stata rilasciata l'approvazione normativa da parte delle autorità di regolamentazione locali.

2. Applicazione

L'anticorpo monoclonale M5E2 si lega al CD14 umano, una glicoproteina di membrana da 53 - 55 kDa legata al glicosilfosfatidilinositolo (GPI) che agisce come recettore sulle cellule mieloidi per ligandi come il lipopolisaccaride (LPS). Si è scoperto che il CD14 è un recettore dei complessi LPS e LBP e vi si lega con elevata affinità. È espresso su monociti e macrofagi ad alti livelli. Inoltre, è presente in alcune cellule dendritiche e macrofagi interfollicolari, nelle cellule dendritiche reticolari e nelle cellule di Langerhans. L'anticorpo è coniugato con un fluoroforo e purificato mediante cromatografia di affinità.

3. Componenti

L'anticorpo monoclonale CD14 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	CD14
Clone	M5E2
Sottotipo di immunoglobulina	IgG2α, kappa
Specie e genere	Topo
Colorante fluorescente	cFluor® V450
Lunghezza d'onda di eccitazione	405 nm
Picco di emissione	450 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 CD14-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 ciascun reagente CD14-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. I risultati della percentuale di monociti CD14+ rientravano nell'intervallo di valori target di controllo del sangue indicato dal produttore.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di monociti CD14+				
Colorante fluorescente CD14	R1	R2	R3	Media	Intervallo di valori target
cFluor V450	90,4	92,0	92,5	91,6	70 - 100

10.2. Precisione intra-lotto

Dieci provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di reagente CD14-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. Il CV della percentuale di monociti CD14+ è stato calcolato e rientrava nei criteri di accettazione.

Campione: sangue normale	Percentuale di monociti CD14+		
Colorante fluorescente CD14	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor V450	80,2	1,08%	CV ≤8%

10.3. Precisione tra lotti

Tre provette di replicati sono state colorate con tre lotti di reagente CD14-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. Il CV della percentuale di monociti CD14+ è stato calcolato e rientrava nei criteri di accettazione.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di monociti CD14+		
Colorante fluorescente CD14	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor V450	80,6	1,16%	CV ≤8%

10.4. Stabilità di marcatura

Tre provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di reagente CD14-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™ nei seguenti punti temporali: entro 2 ore (T0), 6 ore, 24 ore, 48 ore e 72 ore dopo la marcatura. La percentuale di monociti CD14+ 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	Percentuale di monociti CD14+					
Colorante fluorescente CD14	Media (%)	Differenza relativa rispetto a 2 H				Criteri
		6 H	24 H	48 H	72 H	
cFluor V450	79,3	-4,10%	-4,18%	-0,58%	-4,44%	Differenza relativa ≤10%

10.5. Linearità di diluizione

I campioni sono stati diluiti in serie in cinque livelli (non diluiti, 2X, 4X, 8X, 16X). Quattro provette di replicati a ciascun livello di diluizione sono state colorate con lo stesso lotto di reagente CD14-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. La mediana della percentuale di monociti CD14+ a ciascun livello di diluizione è stata confrontata con la mediana della percentuale di monociti CD14+ a tutti i livelli. È stata calcolata la differenza relativa, risultata entro i criteri di accettazione.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di monociti CD14+					
Colorante fluorescente CD14	Differenza relativa					Criteri
	Non diluito	Diluizione 2X	Diluizione 4X	Diluizione 8X	Diluizione 16X	
cFluor V450	-4,68%	-1,27%	-0,00%	2,18%	2,35%	Differenza relativa ≤10%

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

- Pugin J, et al. 1998. Infect Immun. 66:1174
- Wright SD, et al. 1990. Science. 249:1431