



cFluor[®] Anti-Human CD15 (HI98)

Istruzioni per l'uso

Numero di catalogo	Test/flaconcino	Nome prodotto
R7-11025	100	cFluor [®] B548 Anti-Human CD15 (HI98)
R7-11026	25	cFluor [®] B548 Anti-Human CD15 (HI98)

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 CD15 nei Paesi in cui è stata rilasciata l'approvazione normativa da parte delle autorità di regolamentazione locali.

2. Applicazione

L'anticorpo monoclonale HI98 si lega al CD15 umano, una struttura carboidratica di 220 kDa. Il CD15 è anche noto come "3-fucosil-N-acetil-lattosamina" (3-FAL), "Lewis X", "3-FAL", "aptene X" e "SSEA-1". Il CD15 è espresso in notevoli quantità sui granulociti, compresi i neutrofili e gli eosinofili, e in parte sui monociti. È assente nei linfociti e nei basofili. Il CD15, un marcatore per le cellule mieloidi umane, è coinvolto in diverse funzioni cellulari tra cui fagocitosi, attività batterica, adesione neutrofila alle cellule dendritiche e chemiotassi. L'anticorpo è coniugato con un fluoroforo e purificato mediante cromatografia di affinità.

3. Componenti

L'anticorpo monoclonale CD15 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	CD15
Clone	HI98
Sottotipo di immunoglobulina	IgM, kappa
Specie e genere	Topo
Colorante fluorescente	cFluor® B548 ¹
Lunghezza d'onda di eccitazione	488 nm
Picco di emissione	548 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 CD15-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 CD15-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. I risultati della percentuale di granulociti CD15+ rientravano nell'intervallo di valori target di controllo del sangue indicato dal produttore.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di granulociti CD15+				
Colorante fluorescente CD15	R1	R2	R3	Media	Intervallo di valori target
cFluor B548	99,7	99,6	99,7	99,7	90 - 100

10.2. Precisione intra-lotto

Dieci provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di reagente CD15-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. Il CV della percentuale di granulociti CD15+ è stato calcolato e rientrava nei criteri di accettazione.

Campione: sangue normale	Percentuale di granulociti CD15+		
Colorante fluorescente CD15	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor B548	51,9	1,86	CV ≤8%

10.3. Precisione tra lotti

Tre provette di replicati sono state colorate con tre lotti di reagente CD15-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. Il CV della percentuale di granulociti CD15+ è stato calcolato e rientrava nei criteri di accettazione.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di granulociti CD15+		
Colorante fluorescente CD15	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor B548	51,5	2,05	CV ≤8%

10.4. Stabilità di marcatura

Tre provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di reagente CD15-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 granulociti CD15+ 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 granulociti CD15+					
Colorante fluorescente CD15	Media (%)	Differenza relativa rispetto a 2 H				Criteri
		6 H	24 H	48 H	72 H	
cFluor B548	41,8	-0,83%	-0,02%	0,60%	0,43%	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 CD15-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. La mediana della percentuale di granulociti CD15+ a ciascun livello di diluizione è stata confrontata con la mediana della percentuale di granulociti CD15+ a tutti i livelli. È stata calcolata la differenza relativa, risultata entro i criteri di accettazione.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di granulociti CD15+					
Colorante fluorescente CD15	Differenza relativa rispetto a 2 H					Criteri
	Non diluito	Diluizione 2X	Diluizione 4X	Diluizione 8X	Diluizione 16X	
cFluor B548	2,99%	-0,37%	-0,13%	-0,98%	0,26%	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

- Gadhoum SZ, et al. 2008. Nat Chem Biol. 4(12):751-757.
- Lund-Johansen F, et al. 1992. J Immunol. 148(10):3221-3229.

¹cFluor® B548 è equivalente a CF® 514, prodotto e fornito da Biotium, Inc. ai sensi di un contratto tra Biotium e Cytek (LICENZIATARIO). La produzione, l'uso, la vendita, l'offerta di vendita o l'importazione del prodotto sono coperte da uno o più brevetti o richieste di brevetto in corso, di proprietà o concessi in licenza da Biotium. L'acquisto di questo prodotto include un'immunità limitata e non trasferibile da azioni legali in base alle suddette rivendicazioni di brevetto per l'utilizzo solo di questa quantità di prodotto per attività di ricerca interna dell'acquirente. Non viene trasferito espressamente, per implicazione o per preclusione alcun diritto derivante da qualsiasi altra rivendicazione di brevetto, alcun diritto di eseguire qualsiasi metodo brevettato e alcun diritto di eseguire servizi commerciali di alcun tipo, incluse, a titolo esemplificativo ma non esaustivo, le relazioni sui risultati delle attività dell'acquirente a fronte di un compenso o di altra considerazione commerciale.