



# cFluor<sup>®</sup> Anti-Human CD16 (3G8)

## Gebrauchsanleitung

Bestellnr.	Test/Fläschchen	Produktbezeichnung
R7-11069	100	cFluor <sup>®</sup> R668 Anti-Human CD16 (3G8)
R7-11070	25	cFluor <sup>®</sup> R668 Anti-Human CD16 (3G8)
R7-11075	100	cFluor <sup>®</sup> R720 Anti-Human CD16 (3G8)
R7-11076	25	cFluor <sup>®</sup> R720 Anti-Human CD16 (3G8)
R7-11007	100	cFluor <sup>®</sup> BYG575 Anti-Human CD16 (3G8)
R7-11008	25	cFluor <sup>®</sup> BYG575 Anti-Human CD16 (3G8)

## Copyright und Warenzeichen

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



Cytex 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 CD16-Antigenmolekülen in Ländern bestimmt, in denen die Genehmigung der örtlichen Aufsichtsbehörden vorliegt.

## 2. Anwendung

Der monoklonale Antikörper 3G8 bindet an den IgG-Rezeptor III (FcγRIII), der in zwei Formen mit einer Sequenzähnlichkeit von 95 % vorliegt: CD16a (FcγRIIIA) und CD16b (FcγRIIIB). Bei ersterem handelt es sich um ein konventionelles Polypeptid-verankertes Transmembranprotein mit 50–65 kDa und bei letzterem um ein GPI-verankertes Protein mit 48 kDa. CD16a wird auf NK-Zellen und Makrophagen und CD16b auf Neutrophilen exprimiert. CD16a spielt auch eine entscheidende Rolle bei der durch NK-Zellen vermittelten Antikörper-abhängigen zellulären Zytotoxizität (ADCC). Der Antikörper ist an einen Fluorophor konjugiert und wurde mittels Affinitätschromatographie gereinigt.

## 3. Komponenten

Der mit den nachfolgend aufgeführten cFluor-Fluoreszenzfarbstoffen konjugierte monoklonale Anti-CD16-Antikörper wird in phosphatgepufferter Kochsalzlösung, pH 7,2, mit 0,09 % Natriumazid und 0,2 % BSA (BSA-Herkunftsland: USA) geliefert.

Antikörperspezifität	CD16	CD16	CD16
Klon	3G8	3G8	3G8
Immunglobulin-Subtyp	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa
Spezies und Gattung	Maus	Maus	Maus
Fluoreszenzfarbstoff	cFluor <sup>®</sup> R668 <sup>1</sup>	cFluor <sup>®</sup> R720 <sup>1</sup>	cFluor <sup>®</sup> BYG575
Anregungswellenlänge	630 nm	630 nm	488 nm
Emissionspeak	668 nm	720 nm	575 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-CD16-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 %  $\text{NaN}_3$  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 %  $\text{NaN}_3$  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 Cytek oder besuchen Sie [cytekbio.com](http://cytekbio.com).

## 10. Leistungsmerkmale

### 10.1. Richtigkeit

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit jedem cFluor-konjugierten Anti-CD16-Reagenz gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Die Ergebnisse zum prozentualen Anteil der CD16<sup>+</sup>-Lymphozyten lagen innerhalb des vom Hersteller angegebenen Kontrollblut-Zielwertbereichs.

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der CD16 <sup>+</sup> -Lymphozyten				
CD16-Fluoreszenzfarbstoff	R1	R2	R3	Mittelwert	Zielwertbereich
cFluor R668	9,0	9,9	9,8	9,6	5–15
cFluor R720	9,4	8,9	9,9	9,4	
cFluor BYG575	10,9	11,1	12,2	11,4	

### 10.2. Intra-Chargen-Präzision

Es wurden zehn Replikat-Röhrchen mit derselben Charge jedes cFluor-konjugierten Anti-CD16-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Variationskoeffizient (VK) des prozentualen Anteils der CD16<sup>+</sup>-Lymphozyten lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: Normalblut	Prozentualer Anteil der CD16 <sup>+</sup> -Lymphozyten		
CD16-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	% VK	Kriterium
cFluor R668	25,8	4,20	VK ≤ 15 %
cFluor R720	8,4	5,14	
cFluor BYG575	10,2	4,40	

### 10.3. Inter-Chargen-Präzision

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit drei Chargen jedes cFluor-konjugierten Anti-CD16-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Variationskoeffizient (VK) des prozentualen Anteils der CD16<sup>+</sup>-Lymphozyten lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der CD16 <sup>+</sup> -Lymphozyten		
CD16-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	% VK	Kriterium
cFluor R668	24,5	6,19	VK ≤ 15 %
cFluor R720	7,6	6,21	
cFluor BYG575	12,4	2,98	

## 10.4. Stabilität der Färbung

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit der gleichen Charge jedes cFluor-konjugierten Anti-CD16-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer zu folgenden Zeitpunkten analysiert: innerhalb von 2 Stunden (T0), 6 Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden, 72 Stunden (ausschließlich BYG575) nach Färbung. Der prozentuale Anteil der CD16<sup>+</sup>-Lymphozyten zu jedem Zeitpunkt wurde mit dem Wert bei T0 verglichen, und die berechnete mittlere relative Differenz lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: Normalblut	Prozentualer Anteil der CD16 <sup>+</sup> -Lymphozyten					
CD16-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	Relative Differenz vs. 2 Std.				Kriterium
		6 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	
cFluor R668	8,7	-5,16 %	1,16 %	1,85 %	-1,16 %	Relative Differenz ≤ 30 %
cFluor R720	7,0	-4,30 %	0,19 %	3,87 %	-1,43 %	
cFluor BYG575	10,0	3,98 %	-2,11 %	-2,64 %	NA	Relative Differenz ≤ 20 %

## 10.5. Linearität bei Verwendung von Verdünnungen

Es wurde eine Verdünnungsreihe der Proben mit fünf Stufen hergestellt (unverdünnt, 2X, 4X, 8X, 16X). Es wurden vier Replikat-Röhrchen jeder Verdünnungsstufe mit derselben Charge jedes cFluor-konjugierten Anti-CD16-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Medianwert des prozentualen Anteils der CD16<sup>+</sup>-Lymphozyten jeder Verdünnungsstufe wurde mit dem Medianwert des prozentualen Anteils der CD16<sup>+</sup>-Lymphozyten aller Stufen verglichen. Die berechnete relative Differenz lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der CD16 <sup>+</sup> -Lymphozyten					
CD16-Fluoreszenzfarbstoff	Relative Differenz vs. 2 Std.					Kriterium
	Unverdünnt	2X Verdün- nung	4X Verdün- nung	8X Verdün- nung	16X Verdün- nung	
cFluor R668	0,42 %	0,31 %	-0,20 %	-0,33 %	-0,46 %	Relative Differenz ≤ 3 %
cFluor R720	1,16 %	-0,47 %	-0,08 %	-0,54 %	0,81 %	
cFluor BYG575	-0,06 %	0,04 %	0,16 %	-0,07 %	0,01 %	

## 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

- Wirthmueller U, et al. 1992. J Exp Med. 175:1381
- Smed-Sörensen A, et al. 2008. Blood. 111:5037
- Wei H Y, et al, 2016. Sci Rep. 6:34310

<sup>1</sup>cFluor® R668 und cFluor® R720 sind äquivalent zu CF® 647 bzw. CF® 700, die von Biotium, Inc. im Rahmen einer Vereinbarung zwischen Biotium und Cytek (LIZENZNEHMER) hergestellt und vertrieben werden. Die Herstellung, die Verwendung, der Verkauf, Verkaufsangebote oder der Import des Produkts sind durch eines oder mehrere der Patente oder anhängigen Anmeldungen abgedeckt, die Biotium besitzt oder lizenziert hat. Der Kauf dieses Produkts beinhaltet eine begrenzte, nicht übertragbare rechtliche Immunität gemäß den vorstehenden Patentansprüchen für die Verwendung nur der jeweils erworbenen Produktmenge für die eigene interne Forschung des Käufers. Kein Recht aus jeglichem anderen Patentanspruch, kein Recht zur Durchführung eines patentierten Verfahrens und kein Recht zur Erbringung kommerzieller Dienstleistungen jeglicher Art, einschließlich u. a. der Weitergabe der Ergebnisse der Aktivitäten des Käufers gegen eine Gebühr oder einer anderen kommerziellen Gegenleistung, wird abgetreten, weder ausdrücklich noch implizit noch durch Duldung.