



cFluor[®] Anti-Human CD16 (3G8)

Istruzioni per l'uso

Numero di catalogo	Test/flaconcino	Nome prodotto
R7-11069	100	cFluor [®] R668 Anti-Human CD16 (3G8)
R7-11070	25	cFluor [®] R668 Anti-Human CD16 (3G8)
R7-11075	100	cFluor [®] R720 Anti-Human CD16 (3G8)
R7-11076	25	cFluor [®] R720 Anti-Human CD16 (3G8)
R7-11007	100	cFluor [®] BYG575 Anti-Human CD16 (3G8)
R7-11008	25	cFluor [®] BYG575 Anti-Human CD16 (3G8)

Copyright e marchi commerciali

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



Cytel 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 CD16 nei Paesi in cui è stata rilasciata l'approvazione normativa da parte delle autorità di regolamentazione locali.

2. Applicazione

L'anticorpo monoclonale 3G8 si lega al recettore IgG III (FcγRIII) disponibile in due forme: CD16a (FcγRIIIA) e CD16b (FcγRIIIB). Con il 95% di similarità di sequenza, si tratta rispettivamente di una proteina transmembrana convenzionale di 50 - 65 kDa con ancoraggio polipeptidico e di una proteina di 48 kDa con ancoraggio GPI. Il CD16a è espresso sulle cellule NK e sui macrofagi, mentre il CD16b è espresso sui neutrofili. Il CD16a svolge inoltre un ruolo fondamentale nella citotossicità cellulare anticorpo-dipendente (ADCC) delle cellule NK. L'anticorpo è coniugato con un fluoroforo e purificato mediante cromatografia di affinità.

3. Componenti

L'anticorpo monoclonale CD16 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	CD16	CD16	CD16
Clone	3G8	3G8	3G8
Sottotipo di immunoglobulina	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa
Specie e genere	Topo	Topo	Topo
Colorante fluorescente	cFluor [®] R668 ¹	cFluor [®] R720 ¹	cFluor [®] BYG575
Lunghezza d'onda di eccitazione	630 nm	630 nm	488 nm
Picco di emissione	668 nm	720 nm	575 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 CD16-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 CD16-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. I risultati della percentuale di linfociti CD16+ rientravano nell'intervallo di valori target di controllo del sangue indicato dal produttore.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti CD16+				
Colorante fluorescente CD16	R1	R2	R3	Media	Intervallo di valori target
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. Precisione intra-lotto

Dieci provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di ciascun reagente CD16-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. Il CV della percentuale di linfociti CD16+ è stato calcolato e rientrava nei criteri di accettazione.

Campione: sangue normale	Percentuale di linfociti CD16+		
Colorante fluorescente CD16	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor R668	25,8	4,20	CV ≤15%
cFluor R720	8,4	5,14	
cFluor BYG575	10,2	4,40	

10.3. Precisione tra lotti

Tre provette di replicati sono state colorate con tre lotti di ciascun reagente CD16-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. Il CV della percentuale di linfociti CD16+ è stato calcolato e rientrava nei criteri di accettazione.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti CD16+		
Colorante fluorescente CD16	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor R668	24,5	6,19	CV ≤15%
cFluor R720	7,6	6,21	
cFluor BYG575	12,4	2,98	

10.4. Stabilità di marcatura

Tre provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di ciascun reagente CD16-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™ nei seguenti punti temporali: entro 2 ore (T0), 6 ore, 24 ore, 48 ore e 72 ore (escluso BYG575) dopo la marcatura. La percentuale di linfociti CD16+ 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 linfociti CD16+					
Colorante fluorescente CD16	Media (%)	Differenza relativa rispetto a 2 H				Criteri
		6 H	24 H	48 H	72 H	
cFluor R668	8,7	-5,16%	1,16%	1,85%	-1,16%	Differenza relativa ≤30%
cFluor R720	7,0	-4,30%	0,19%	3,87%	-1,43%	
cFluor BYG575	10,0	3,98%	-2,11%	-2,64%	NA	Differenza relativa ≤20%

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 ciascun reagente CD16-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. La mediana della percentuale di linfociti CD16+ a ciascun livello di diluizione è stata confrontata con la mediana della percentuale di linfociti CD16+ a tutti i livelli. È stata calcolata la differenza relativa, risultata entro i criteri di accettazione.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti CD16+					
Colorante fluorescente CD16	Differenza relativa rispetto a 2 H					Criteri
	Non diluito	Diluizione 2X	Diluizione 4X	Diluizione 8X	Diluizione 16X	
cFluor R668	0,42%	0,31%	-0,20%	-0,33%	-0,46%	Differenza relativa ≤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. 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

- 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

¹cFluor[®] R668 e cFluor[®] R720 sono rispettivamente equivalenti a CF[®] 647 e CF[®] 700, prodotti e forniti da Biotium, Inc. ai sensi di un contratto tra Biotium e Cytex (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.