



cFluor[®] Anti-Human CD2 (RPA-2.10)

Mode d'emploi

Référence	Essais/flacon	Nom du produit
R7-11143	100	cFluor [®] R720 Anti-Human CD2 (RPA-2.10)
R7-11144	25	cFluor [®] R720 Anti-Human CD2 (RPA-2.10)

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 CD2 dans les pays où l'approbation réglementaire a été obtenue auprès des autorités de réglementation locales.

2. Application

L'anticorps monoclonal anti-CD2 (RPA-2.10) se lie à la molécule CD2 humaine, une glycoprotéine transmembranaire de type I de 50 kDa. La molécule CD2, aussi appelée LFA-2, T11 et SRBC-R (sheep red blood cell receptor), est exprimée dans les thymocytes, les lymphocytes T, les cellules NK et les sous-groupes de lymphocytes B thymiques. Le ligand principal pour la molécule CD2 est CD58 (aussi appelé LFA-3). CD2 se lie également à CD48, CD59 et CD15. La molécule CD2 joue un rôle dans la voie alternative d'activation des lymphocytes T, la signalisation des lymphocytes T et l'adhésion intercellulaire. L'anticorps est conjugué à un fluorophore et purifié par chromatographie d'affinité.

3. Composants

L'anticorps monoclonal anti-CD2 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	CD2
Clone	RPA-2.10
Sous-type d'immunoglobuline	IgG1, kappa
Espèce et genre	Souris
Colorant fluorescent	cFluor [®] R720 ¹
Longueur d'onde d'excitation	640 nm
Pic d'émission	720 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-CD2-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 NaN₃ 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 NaN₃ 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 pour des détails sur la résolution des problèmes.

10. Caractéristiques de performance

10.1. Exactitude

Trois réplicats ont été colorés avec le conjugué anti-CD2-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™. Les résultats en pourcentage de lymphocytes CD2+ sont tombés dans les plages cibles pour les échantillons de sang témoins fournies par le fabricant.

Échantillon : CD-CHEX PLUS	Lymphocytes CD2+ (pourcentage)				
Anti-CD2-colorant fluorescent	R1	R2	R3	Moyenne	Plage de valeurs cible
cFluor R720	85,3	85,7	85,6	85,5	73,5-97,5

10.2. Précision intra-lot

Dix réplicats ont été colorés avec le même lot de conjugué anti-CD2-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™. Le CV du pourcentage de lymphocytes CD2+ a été calculé et se situait dans les limites des critères d'acceptation.

Échantillon : Sang normal	Lymphocytes CD2+ (pourcentage)		
Anti-CD2-colorant fluorescent	Moyenne (%)	% CV	Critères
cFluor R720	85,6	0,42	CV ≤ 8 %

10.3. Précision inter-lot

Trois réplicats ont été colorés avec trois lots de conjugué anti-CD2-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™. Le CV du pourcentage de lymphocytes CD2+ a été calculé et se situait dans les limites des critères d'acceptation.

Échantillon : CD-CHEX PLUS	Lymphocytes CD2+ (pourcentage)		
Anti-CD2-colorant fluorescent	Moyenne (%)	% CV	Critères
cFluor R720	85,4	0,38	CV ≤ 8 %

10.4. Stabilité de la coloration

Trois réplicats ont été colorés avec le même lot de conjugué anti-CD2-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 lymphocytes CD2+ 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	Lymphocytes CD2+ (pourcentage)			
Anti-CD2-colorant fluorescent	Moyenne (%)	Différence relative par rapport à T0		Critères
		24 h	48 h	
cFluor R720	85,5	0,77 %	0,41 %	Différence relative ≤ 10 %

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

- Moingeon P, *et al.* 1989. Immunol Rev. 111: 111-44
- Schraven B. J Biol Regul Homeost Agents. 14(3):223-5
- Binder C, *et al.* Front Immunol. 11: 1090

¹cFluor® R720 est équivalent à CF® 700, fabriqué et fourni par Biotium, Inc. dans le cadre d'un accord entre Biotium et Cytek (DÉTENTEUR DE LICENCE). La fabrication, l'utilisation, la vente, l'offre de vente ou l'importation du produit sont protégées par un ou plusieurs brevets ou demandes de brevet en instance détenus ou utilisés sous licence par Biotium. L'achat de ce produit comprend une immunité juridictionnelle limitée non cessible aux termes des revendications de brevets précédents quant à l'utilisation de la quantité de produit indiquée aux fins exclusives de recherche interne de l'acheteur. Aucun droit en vertu de toute autre revendication de brevet, aucun droit d'utiliser une méthode brevetée et aucun droit de fournir des services commerciaux d'aucune sorte, y compris, sans toutefois s'y limiter, la communication des résultats des activités de l'acheteur en contrepartie d'honoraires ou d'autre considération commerciale, ne sont accordés expressément, implicitement ou par préclusion.