



cFluor[®] Anti-Human CD3 (SK7)

Mode d'emploi

Référence	Essais/flacon	Nom du produit
R7-11001	100	cFluor [®] B520 Anti-Human CD3 (SK7)
R7-11002	25	cFluor [®] B520 Anti-Human CD3 (SK7)
R7-11053	100	cFluor [®] V420 Anti-Human CD3 (SK7)
R7-11054	25	cFluor [®] V420 Anti-Human CD3 (SK7)

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 CD3 dans les pays où l'approbation réglementaire a été obtenue auprès des autorités de réglementation locales.

2. Application

L'anticorps monoclonal anti-SK7 se lie à la chaîne epsilon du récepteur de l'antigène CD3 humain/antigène des lymphocytes T, un complexe protéique de 20 à 30 kDa. Ce complexe contient un CD3 γ , un CD3 δ , un CD3 ζ (CD247), deux CD3 ϵ et un hétérodimère de récepteur de lymphocytes T ($\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$). La molécule CD3 est exprimée sur tous les lymphocytes T matures, toutes les cellules NK-T et certains thymocytes. Elle joue un rôle dans la reconnaissance des antigènes, activant les lymphocytes T cytotoxiques et auxiliaires, ainsi que dans la transduction du signal. L'anticorps est conjugué à un fluorophore et purifié par chromatographie d'affinité.

3. Composants

L'anticorps monoclonal anti-CD3 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	CD3	CD3
Clone	SK7	SK7
Sous-type d'immunoglobuline	IgG1, kappa	IgG1, kappa
Espèce et genre	Souris	Souris
Colorant fluorescent	cFluor [®] B520	cFluor [®] V420
Longueur d'onde d'excitation	488 nm	405 nm
Pic d'émission	520 nm	420 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 μ l, 100 μ l et 1 000 μ l
- Tube de 12 mm x 75 mm
- Vortex
- Cytomètre en flux

6. Exigences concernant les échantillons

- 1 Au moins 500 µl de sang périphérique prélevé 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-CD3-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 ; conserver à 4 °C avant de les analyser par cytométrie en flux dans les 2 heures. Si l'analyse doit être reportée (plus de 2 heures), utiliser 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 Cytek 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 chaque conjugué anti-CD3-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytex Northern Lights™. Les résultats en pourcentage de lymphocytes CD3+ sont tombés dans les plages cibles pour les échantillons de sang témoins fournies par le fabricant.

Échantillon : CD-CHEX PLUS	Lymphocytes CD3+ (pourcentage)				
Anti-CD3-colorant fluorescent	R1	R2	R3	Moyenne	Plage de valeurs cible
cFluor B520	77,3	77,5	76,7	77,2	67,5-87,5
cFluor V420	76,9	76,8	78,6	77,5	66,3-86,3

10.2. Précision intra-lot

Dix réplicats ont été colorés avec le même lot de chaque conjugué anti-CD3-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytex Northern Lights™. Le CV du pourcentage de lymphocytes CD3+ a été calculé et se situait dans les limites des critères d'acceptation.

Échantillon : Sang normal	Lymphocytes CD3+ (pourcentage)		
Anti-CD3-colorant fluorescent	Moyenne (%)	% CV	Critères
cFluor B520B	74,9	0,65	CV ≤ 8 %
cFluor V420	61,6	0,74	

10.3. Précision inter-lot

Trois réplicats ont été colorés avec trois lots de chaque conjugué anti-CD3-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytex Northern Lights™. Le CV du pourcentage de lymphocytes CD3+ a été calculé et se situait dans les limites des critères d'acceptation.

Échantillon : CD-CHEX PLUS	Lymphocytes CD3+ (pourcentage)		
Anti-CD3-colorant fluorescent	Moyenne (%)	% CV	Critères
cFluor B520	75,1	1,21	CV ≤ 8 %
cFluor V420	66,0	1,02	

10.4. Stabilité de la coloration

Trois réplicats ont été colorés avec le même lot de chaque conjugué anti-CD3-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™ aux échéances suivantes : dans les 2 heures (T0), 6 heures, 24 heures, 48 heures et 72 heures (pour B520 uniquement) après la coloration. À chaque échéance, le pourcentage de lymphocytes CD3+ 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 CD3+ (pourcentage)					Critères
	Moyenne (%)	Différence relative par rapport à T0				
		6 h	24 h	48 h	72 h	
Anti-CD3-colorant fluorescent						
cFluor B520	75,1	-0,83 %	0,01 %	-0,36 %	Non disponible	Différence relative ≤ 10 %
cFluor V420	65,4	0,15 %	0,73 %	1,64 %	0,42 %	

10.5. Linéarité des dilutions

Les échantillons ont été dilués en série à cinq niveaux (non dilué, 2X, 4X, 8X, 16X). Quatre réplicats à chaque niveau ont été colorés avec le même lot de chaque conjugué anti-CD3-cFluor et analysés avec le cytomètre en flux Cytek Northern Lights™. La médiane du pourcentage de lymphocytes CD3+ à chaque dilution a été comparée à la médiane du pourcentage de lymphocytes CD3+ à tous les niveaux. La différence relative a été calculée et se trouvait dans les critères acceptables.

Échantillon : CD-CHEX PLUS	Lymphocytes CD3+ (pourcentage)					Critères
	Différence relative par rapport à T0					
	Non dilué	Dilution 2X	Dilution 4X	Dilution 8X	Dilution 16X	
Anti-CD3-colorant fluorescent						
cFluor B520	0,37 %	0,19 %	0,67 %	-0,33 %	-0,61 %	Différence relative ≤ 10 %
cFluor V420	0,12 %	0,00 %	0,59 %	1,03 %	0,07 %	

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

- Dong, D., *et al.* 1981. Nature. 573, 546-552
- Weiss A, *et al.* 1991. Semin Immunol. (5):313-24