



# cFluor<sup>®</sup> Anti-Human CD3 (SK7)

## Instrucciones de uso

N.º de referencia	Muestras/Vial	Nombre del producto
R7-11001	100	cFluor <sup>®</sup> B520 Anti-Human CD3 (SK7)
R7-11002	25	cFluor <sup>®</sup> B520 Anti-Human CD3 (SK7)
R7-11053	100	cFluor <sup>®</sup> V420 Anti-Human CD3 (SK7)
R7-11054	25	cFluor <sup>®</sup> V420 Anti-Human CD3 (SK7)

## Copyright y marcas comerciales

© 2022 Cytel Biosciences, Inc. Todos los derechos reservados. Cytel, el logotipo de Cytel, cFluor y Northern Lights son marcas comerciales o marcas registradas de Cytel Biosciences, Inc. Todas las demás marcas de servicio, marcas comerciales y nombres comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.



Cytel Biosciences, Inc.  
47215 Lakeview Blvd.  
Fremont, CA 94538  
EE. UU.  
1.877.92.CYTEK (1.877.922.9835)

products@cytekbio.com  
cytekbio.com



Emergo Europe  
Prinsessegracht 20  
2514 AP La Haya  
Países Bajos

## 1. Uso previsto

Este producto está indicado para uso diagnóstico *in vitro*, para identificar células humanas que expresen moléculas del antígeno CD3 en países en los que se haya obtenido la aprobación normativa de las autoridades sanitarias locales.

## 2. Aplicación

El anticuerpo monoclonal SK7 se une a la cadena épsilon humana del antígeno CD3 o al receptor del antígeno en el linfocito T, un complejo proteico de 20 a 30 kDa. Este complejo contiene un CD3 $\gamma$ , un CD3 $\delta$ , un CD3 $\zeta$  (CD247), dos Cd3 $\epsilon$  y un heterodímero ( $\alpha\beta$  o  $\gamma\delta$ ) del receptor de los linfocitos T. El CD3 se encuentra en todos los linfocitos T maduros, los linfocitos T NK y algunos timocitos. Participa en el reconocimiento de antígenos, la activación de los linfocitos T citotóxicos y los linfocitos T cooperadores, y en la transducción de señales. El anticuerpo se conjuga con un fluoróforo y se purifica por cromatografía de afinidad.

## 3. Componentes

El anticuerpo monoclonal anti-CD3 conjugado con los fluorocromos cFluor indicados a continuación se suministra en solución salina tamponada con fosfatos, pH 7,2, con un 0,09 % de azida sódica y un 0,2 % de seroalbúmina bovina (BSA, país de origen, EE. UU.).

Especificidad del anticuerpo	CD3	CD3
Clon	SK7	SK7
Subtipo de inmunoglobulinas	IgG1, kappa	IgG1, kappa
Especie y género	Ratón	Ratón
Fluorocromo	cFluor <sup>®</sup> B520	cFluor <sup>®</sup> V420
Longitud de onda de excitación	488 nm	405 nm
Pico de emisión	520 nm	420 nm

## 4. Almacenamiento y manipulación

Este producto es estable hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta, siempre que se guarde protegido de la luz, a una temperatura de 2-8 °C. No congelar.

## 5. Otros materiales necesarios pero no suministrados

- Solución de lisado de hematíes
- Pipetas y puntas de pipeta de 20  $\mu$ l, 100  $\mu$ l y 1000  $\mu$ l
- Tubo de 12x75 mm
- Vórtex
- Citómetro de flujo

## 6. Requisitos de la muestra

- 1 Se requiere la recogida por venopunción de un mínimo de 500 µl de sangre periférica en un tubo anticoagulación con EDTA.
- 2 Tras la recogida, las muestras deben conservarse a temperatura ambiente (18-25 °C). No las agite. El tiempo de almacenamiento no debe ser superior a 24 horas.
- 3 Tras la tinción, las muestras deben conservarse a una temperatura de 2-8 °C, protegidas de la luz, y analizarse por citometría de flujo antes de 2 horas.
- 4 Evite utilizar muestras coaguladas o con contaminación microbiana.

## 7. Procedimiento

- 1 Añada 100 µl de sangre completa anticoagulada con EDTA bien mezclada al fondo de un tubo. Evite que la sangre toque la pared superior del tubo.
- 2 Centrifugue brevemente este producto antes de utilizarlo. Añada 5 µl de reactivo conjugado de CD3-cFluor al fondo del tubo.
- 3 Mezcle bien en el vórtex e incube durante 15-30 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz.
- 4 Añada 2 ml de tampón de lisis 1 X al tubo, mezcle brevemente en el vórtex e incube durante 10-15 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
- 5 Centrifugue a 300 x g durante 5 minutos, deseche el sobrenadante, añada 2 ml de PBS con un 0,02 % de BSA y un 0,09 % de NaN<sub>3</sub> para resuspender las células.
- 6 Centrifugue a 300 x g durante 5 minutos, deseche el sobrenadante, añada 300 µl de PBS con un 0,02 % de BSA y un 0,09 % de NaN<sub>3</sub> para resuspender las células, conserve a 4 °C y analice por citometría de flujo antes de 2 horas. Si es necesario retrasar el análisis (más de 2 horas), se deben utilizar 300 µl de PBS con 1 % de paraformaldehído para resuspender las células y conservar la muestra refrigerada a una temperatura de 2-8 °C, protegida de la luz; en este caso, sin embargo, el tiempo de almacenamiento no debe ser superior a 24 horas.

## 8. Control de calidad

- Control de calidad del instrumento: utilice los controles recomendados por el fabricante en función del modelo del citómetro de flujo.
- Consulte la Guía del usuario del instrumento para ver la información relativa al mantenimiento del instrumento.

## 9. Advertencias

- Este reactivo contiene trazas de azida sódica. No pipetee con la boca.
- Cuando utilice este producto use el equipo de protección individual adecuado según la ficha de datos de seguridad.
- Siga las prácticas de bioseguridad de conformidad con las normativas locales, regionales y nacionales al manipular todas las muestras biológicas y los materiales en contacto con ellas.
- Póngase en contacto con el servicio de asistencia de Cytel o consulte la información sobre solución de problemas en [cytekbio.com](http://cytekbio.com).

## 10. Características de rendimiento

### 10.1. Exactitud

Se tiñeron 3 réplicas de tubos con cada reactivo conjugado de CD3-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex. Los resultados de porcentaje de linfocitos CD3+ estuvieron dentro del intervalo de valores diana en sangre del control proporcionado por el fabricante.

Muestra: CD-CHEX PLUS	Porcentaje de linfocitos CD3+				
CD3-Fluorocromo	R1	R2	R3	Media	Intervalo de valores diana
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. Precisión intralote

Se tiñeron 10 réplicas de tubos con el mismo lote de cada reactivo conjugado de CD3-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex. Se calculó el CV del porcentaje de linfocitos CD3+ y estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: sangre normal	Porcentaje de linfocitos CD3+		
CD3-Fluorocromo	Promedio (%)	% CV	Criterios
cFluor B520B	74,9	0,65	CV ≤ 8 %
cFluor V420	61,6	0,74	

### 10.3. Precisión entre lotes

Se tiñeron 3 réplicas de tubos con tres lotes de cada reactivo conjugado de CD3-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex. Se calculó el CV del porcentaje de linfocitos CD3+ y estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: CD-CHEX PLUS	Porcentaje de linfocitos CD3+		
CD3-Fluorocromo	Promedio (%)	% CV	Criterios
cFluor B520	75,1	1,21	CV ≤ 8 %
cFluor V420	66,0	1,02	

## 10.4. Estabilidad de la tinción

Se tiñeron 3 réplicas de tubos con el mismo lote de cada reactivo conjugado de CD3-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex en los siguientes puntos temporales: antes de 2 horas (T0) y después de 6 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas (solo para B520) tras la tinción. El porcentaje de linfocitos CD3+ en cada punto temporal se comparó con el T0 y se calculó la diferencia relativa media, que estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: sangre normal	Porcentaje de linfocitos CD3+					
CD3-Fluorocromo	Promedio (%)	Diferencia relativa frente a 2 h				Criterios
		6 h	24 h	48 h	72 h	
cFluor B520	75,1	-0,83 %	0,01 %	-0,36 %	NA	Diferencia relativa ≤10 %
cFluor V420	65,4	0,15 %	0,73 %	1,64 %	0,42 %	

## 10.5. Linealidad de la dilución

Las muestras se diluyeron de forma seriada en cinco niveles (sin diluir, 2X, 4X, 8X, 16X). Se tiñeron 4 réplicas de tubos de cada dilución con el mismo lote de cada reactivo conjugado de CD3-cFluor y se analizaron en un citómetro de flujo Northern Lights™ de Cytex. La mediana del porcentaje de linfocitos CD3+ de cada dilución se comparó con la mediana del porcentaje de linfocitos CD3+ en todos los niveles y se calculó la diferencia relativa, que estuvo dentro de los criterios de aceptación.

Muestra: CD-CHEX PLUS	Porcentaje de linfocitos CD3+					
CD3-Fluorocromo	Diferencia relativa frente a 2 h					Criterios
	Sin diluir	Dilución 2X	Dilución 4X	Dilución 8X	Dilución 16X	
cFluor B520	0,37 %	0,19 %	0,67 %	-0,33 %	-0,61 %	Diferencia relativa ≤10 %
cFluor V420	0,12 %	0,00 %	0,59 %	1,03 %	0,07 %	

## 11. Limitaciones

- 1 Este reactivo puede utilizarse para citometría de flujo y no se recomienda su uso para microscopía de fluorescencia ni inmunohistoquímica.
- 2 Este reactivo es un producto marcado con fluorescencia. La fluorescencia puede extinguirse fácilmente con la exposición prolongada a la luz y el producto debe manipularse protegido de la luz.
- 3 Si no se sigue el procedimiento de lavado y lisado descrito anteriormente, el rendimiento del reactivo puede verse afectado.
- 4 Los resultados pueden verse afectados por el almacenamiento incorrecto de los reactivos, la coagulación de las muestras, el almacenamiento incorrecto de las muestras o el lisado incompleto de los hematíes en las muestras.
- 5 Los resultados del ensayo con este reactivo son exclusivamente para referencia clínica. Para el diagnóstico debe considerarse también el historial del paciente, otras pruebas de laboratorio y la respuesta al tratamiento.

## 12. Referencias

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