



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

## Gebrauchsanleitung

Bestellnr.	Test/Fläschchen	Produktbezeichnung
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 und Warenzeichen

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



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 Den Haag  
Niederlande

## 1. Verwendungszweck

Dieses Produkt ist für die Verwendung in der In-vitro-Diagnostik zur Identifizierung menschlicher Zellen mit Expression von CD3-Antigenmolekülen in Ländern bestimmt, in denen die Genehmigung der örtlichen Aufsichtsbehörden vorliegt.

## 2. Anwendung

Der monoklonale Antikörper SK7 bindet an die Epsilon-Kette des humanen CD3-Antigen/T-Zell-Antigen-Rezeptors, einem Proteinkomplex mit 20 bis 30 kDa. Dieser Komplex enthält ein CD3 $\gamma$ , ein CD3 $\delta$ , ein CD3 $\zeta$  (CD247), zwei CD3 $\epsilon$  und ein T-Zellrezeptor( $\alpha\beta$  oder  $\gamma\delta$ )-Heterodimer. CD3 kommt auf reifen T-Zellen, allen T- und NK-T-Zellen und manchen Thymozyten vor. Es spielt eine Rolle bei der Erkennung von Antigenen, bei der Aktivierung von zytotoxischen T-Zellen und T-Helferzellen und bei der Signalübertragung. Der Antikörper ist an einen Fluorophor konjugiert und wurde mittels Affinitätschromatographie gereinigt.

## 3. Komponenten

Der mit den nachfolgend aufgeführten cFluor-Fluoreszenzfarbstoffen konjugierte monoklonale Anti-CD3-Antikörper wird in phosphatgepufferter Kochsalzlösung, pH 7,2, mit 0,09 % Natriumazid und 0,2 % BSA (BSA-Herkunftsland: USA) geliefert.

Antikörperspezifität	CD3	CD3
Klon	SK7	SK7
Immunglobulin-Subtyp	IgG1, kappa	IgG1, kappa
Spezies und Gattung	Maus	Maus
Fluoreszenzfarbstoff	cFluor <sup>®</sup> B520	cFluor <sup>®</sup> V420
Anregungswellenlänge	488 nm	405 nm
Emissionspeak	520 nm	420 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  $\mu$ l, 100  $\mu$ l und 1000  $\mu$ l
- 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-CD3-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-CD3-Reagenz gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Die Ergebnisse zum prozentualen Anteil der CD3<sup>+</sup>-Lymphozyten lagen innerhalb des vom Hersteller angegebenen Kontrollblut-Zielwertbereichs.

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der CD3 <sup>+</sup> -Lymphozyten				
CD3-Fluoreszenzfarbstoff	R1	R2	R3	Mittelwert	Zielwertbereich
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. Intra-Chargen-Präzision

Es wurden zehn Replikat-Röhrchen mit derselben Charge jedes cFluor-konjugierten Anti-CD3-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Variationskoeffizient (VK) des prozentualen Anteils der CD3<sup>+</sup>-Lymphozyten lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: Normalblut	Prozentualer Anteil der CD3 <sup>+</sup> -Lymphozyten		
CD3-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	% VK	Kriterium
cFluor B520B	74,9	0,65	VK ≤ 8 %
cFluor V420	61,6	0,74	

### 10.3. Inter-Chargen-Präzision

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit drei Chargen jedes cFluor-konjugierten Anti-CD3-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Variationskoeffizient (VK) des prozentualen Anteils der CD3<sup>+</sup>-Lymphozyten lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der CD3 <sup>+</sup> -Lymphozyten		
CD3-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	% VK	Kriterium
cFluor B520	75,1	1,21	VK ≤ 8 %
cFluor V420	66,0	1,02	

## 10.4. Stabilität der Färbung

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit der gleichen Charge jedes cFluor-konjugierten Anti-CD3-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytex Northern Lights™ Durchflusszytometer zu folgenden Zeitpunkten analysiert: innerhalb von 2 Stunden (T0), 6 Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden und 72 Stunden (nur für B520) nach Färbung. Der prozentuale Anteil der CD3<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 CD3 <sup>+</sup> -Lymphozyten					
CD3-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	Relative Differenz vs. 2 Std.				Kriterium
		6 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	
cFluor B520	75,1	-0,83 %	0,01 %	-0,36 %	NA	Relative Differenz ≤ 10 %
cFluor V420	65,4	0,15 %	0,73 %	1,64 %	0,42 %	

## 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-CD3-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytex Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Medianwert des prozentualen Anteils der CD3<sup>+</sup>-Lymphozyten jeder Verdünnungsstufe wurde mit dem Medianwert des prozentualen Anteils der CD3<sup>+</sup>-Lymphozyten aller Stufen verglichen, und die berechnete relative Differenz lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der CD3 <sup>+</sup> -Lymphozyten					
CD3-Fluoreszenzfarbstoff	Relative Differenz vs. 2 Std.					Kriterium
	Unverdünnt	2X Verdün- nung	4X Verdün- nung	8X Verdün- nung	16X Verdün- nung	
cFluor B520	0,37 %	0,19 %	0,67 %	-0,33 %	-0,61 %	Relative Differenz ≤ 10 %
cFluor V420	0,12 %	0,00 %	0,59 %	1,03 %	0,07 %	

## 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

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