



cFluor[®] Anti-Human CD4 (SK3)

Istruzioni per l'uso

Numero di catalogo	Test/flaconcino	Nome prodotto
R7-11027	100	cFluor [®] B515 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11028	25	cFluor [®] B515 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11037	100	cFluor [®] B532 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11038	25	cFluor [®] B532 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11043	100	cFluor [®] B548 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11044	25	cFluor [®] B548 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11049	100	cFluor [®] R668 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11050	25	cFluor [®] R668 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11045	100	cFluor [®] R720 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11046	25	cFluor [®] R720 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11057	100	cFluor [®] V450 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11058	25	cFluor [®] V450 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11003	100	cFluor [®] BYG781 Anti-Human CD4 (SK3)
R7-11004	25	cFluor [®] BYG781 Anti-Human CD4 (SK3)

Copyright e marchi commerciali

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



Cytek 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 CD4 nei Paesi in cui è stata rilasciata l'approvazione normativa da parte delle autorità di regolamentazione locali.

2. Applicazione

L'anticorpo monoclonale CD4 (SK3) si lega al CD4 umano, una glicoproteina transmembrana di tipo I di 59 kDa appartenente alla superfamiglia delle immunoglobuline. La molecola CD4 è espressa prevalentemente sui timociti e su una sottopopolazione di linfociti T helper maturi. È presente anche a bassi livelli sui monociti. Il CD4 interviene nell'interazione cellula-cellula agendo come co-recettore per l'MHC di classe II nel riconoscimento dell'antigene. È stato anche dimostrato che il CD4 lega la glicoproteina 120 sull'envelope dell'HIV. L'anticorpo è coniugato con un fluoroforo e purificato mediante cromatografia di affinità.

3. Componenti

L'anticorpo monoclonale CD4 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	CD4	CD4	CD4	CD4	CD4	CD4	CD4
Clone	SK3	SK3	SK3	SK3	SK3	SK3	SK3
Sottotipo di immunoglobulina	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa
Specie e genere	Topo	Topo	Topo	Topo	Topo	Topo	Topo
Colorante fluorescente	cFluor [®] B515 ¹	cFluor [®] B532 ¹	cFluor [®] B548 ¹	cFluor [®] R668 ¹	cFluor [®] R720 ¹	cFluor [®] V450	cFluor [®] BYG781 ²
Lunghezza d'onda di eccitazione	488 nm	488 nm	488 nm	640 nm	640 nm	405 nm	488 nm
Picco di emissione	515 nm	532 nm	548 nm	668 nm	720 nm	450 nm	781 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 CD4-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 CD4-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. I risultati della percentuale di linfociti T CD4+ rientravano nell'intervallo di valori target di controllo del sangue indicato dal produttore.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti T CD4+				
Colorante fluorescente CD4	R1	R2	R3	Media	Intervallo di valori target
cFluor B515	49,2	48,8	48,5	48,9	42,7 - 54,7
cFluor B532	47,6	48,9	48,2	48,3	42,7 - 54,7
cFluor B548	45,6	45,0	47,9	46,2	42,7 - 54,7
cFluor BYG781	50,6	51,6	50,8	51,0	44,4 - 56,4
cFluor R668	48,6	47,8	49,3	48,5	42,7 - 54,7
cFluor R720	48,4	49,1	47,5	48,4	42,7 - 54,7
cFluor V450	46,8	49,5	46,7	47,7	42,7 - 54,7

10.2. Precisione intra-lotto

Dieci provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di ciascun reagente CD4-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. I CV della percentuale di linfociti T CD4+ sono stati calcolati e rientravano nei criteri di accettazione.

Campione: sangue normale	Percentuale di linfociti T CD4+		
Colorante fluorescente CD4	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor B515	25,4	3,02	CV ≤15%
cFluor B532	46,9	1,07	CV ≤8%
cFluor B548	46,8	1,34	
cFluor BYG781	48,2	1,64	
cFluor R668	48,2	1,40	
cFluor R720	47,3	1,27	
cFluor V450	50,3	1,60	

10.3. Precisione tra lotti

Tre provette di replicati sono state colorate con tre lotti di ciascun reagente CD4-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. I CV della percentuale di linfociti T CD4+ sono stati calcolati e rientravano nei criteri di accettazione.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti T CD4+		
Colorante fluorescente CD4	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor B515	43,3	5,37	CV ≤8%
cFluor B532	46,7	1,19	
cFluor B548	47,5	1,15	
cFluor BYG781	46,8	1,66	
cFluor R668	48,9	1,76	
cFluor R720	47,5	2,00	
cFluor V450	49,9	1,37	

10.4. Stabilità di marcatura

Tre provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di ciascun reagente CD4-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 dopo la marcatura. La percentuale di linfociti T CD4+ 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 T CD4+					
Colorante fluorescente CD4	Media (%)	Differenza relativa rispetto a 2 H				Criteri
		6 H	24 H	48 H	72 H	
cFluor B515	48,3	0,14%	1,75%	2,83%	3,22%	Differenza relativa ≤10%
cFluor B532	47,0	0,15%	0,99%	2,05%	3,01%	
cFluor B548	47,1	1,10%	0,04%	0,52%	0,66%	
cFluor BYG781	48,2	-1,05%	1,79%	0,14%	NA	
cFluor R668	46,2	4,46%	5,64%	6,89%	7,28%	
cFluor R720	47,4	2,05%	3,55%	0,58%	0,33%	
cFluor V450	47,6	-0,57%	3,17%	3,57%	3,94%	

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 CD4-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. La mediana della percentuale di linfociti T CD4+ a ciascun livello di diluizione è stata confrontata con la mediana della percentuale di linfociti T CD4+ a tutti i livelli. È stata calcolata la differenza relativa, risultata entro i criteri di accettazione.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti T CD4+					
Colorante fluorescente CD4	Differenza relativa rispetto a 2 H					Criteri
	Non diluito	Diluizione 2X	Diluizione 4X	Diluizione 8X	Diluizione 16X	
cFluor B515	1,50%	-0,37%	1,78%	-1,08%	-3,10%	Differenza relativa ≤10%
cFluor B532	0,79%	0,00%	0,80%	-0,09%	-0,13%	
cFluor B548	0,73%	0,18%	0,52%	0,66%	-1,37%	
cFluor BYG781	0,69%	1,57%	1,29%	-1,98%	-0,71%	
cFluor R668	-2,74%	0,34%	-0,36%	1,40%	1,22%	
cFluor R720	1,45%	1,17%	0,25%	-0,86%	-2,42%	
cFluor V450	1,62%	0,78%	0,53%	-0,53%	-3,89%	

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 e 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

- Evans RL, et al. 1981. Immunol. 78:544
- Muench M, et al. 1997. Blood 89:1364
- Arno A et al. 1999. J. Infect. Dis. 180:56

¹cFluor[®] B515, cFluor[®] B532, cFluor[®] B548, cFluor[®] R668 e cFluor[®] R720 sono rispettivamente equivalenti a CF[®] 488A, CF[®] 503R, CF[®] 514, CF[®] 647 e CF[®] 700, prodotti e forniti da Biotium, Inc. ai sensi di un contratto tra Biotium e Cytek (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.

²cFluor[®] BYG781 è un colorante tandem realizzato con R-PE. Attenzione: a seguito dell'esposizione prolungata alla luce o ai fissativi, i coloranti tandem possono mostrare variazioni degli spettri di emissione.