



cFluor® Anti-Human CD4 (SK3)

Gebrauchsanleitung

Bestellnr.	Test/Fläschchen	Produktbezeichnung
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 und Warenzeichen

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



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 Den Haag
Niederlande

1. Verwendungszweck

Dieses Produkt ist für die Verwendung in der In-vitro-Diagnostik zur Identifizierung menschlicher Zellen mit Expression von CD4-Antigenmolekülen in Ländern bestimmt, in denen die Genehmigung der örtlichen Aufsichtsbehörden vorliegt.

2. Anwendung

Der monoklonale Anti-CD4-Antikörper (SK3) bindet an humanes CD4, ein Typ-I-Transmembran-Glykoprotein mit 59 kDa aus der Immunglobulin-Superfamilie. Das CD4-Molekül wird überwiegend auf Thymozyten und auf einer Subpopulation reifer T-Helfer-Lymphozyten exprimiert. Es ist in geringen Mengen auch auf Monozyten vorhanden. CD4 spielt eine Rolle bei der Interaktion zwischen Zellen, indem es als Corezeptor für Moleküle der HLA-Klasse II bei der Antigenerkennung dient. Außerdem wurde gezeigt, dass CD4 an Glykoprotein 120 auf der äußeren Hülle von HIV bindet. Der Antikörper ist an einen Fluorophor konjugiert und wurde mittels Affinitätschromatographie gereinigt.

3. Komponenten

Der mit den nachfolgend aufgeführten cFluor-Fluoreszenzfarbstoffen konjugierte monoklonale Anti-CD4-Antikörper wird in phosphatgepufferter Kochsalzlösung, pH 7,2, mit 0,09 % Natriumazid und 0,2 % BSA (BSA-Herkunftsland: USA) geliefert.

Antikörperspezifität	CD4	CD4	CD4	CD4	CD4	CD4	CD4
Klon	SK3	SK3	SK3	SK3	SK3	SK3	SK3
Immunglobulin-Subtyp	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa	IgG1, kappa
Spezies und Gattung	Maus	Maus	Maus	Maus	Maus	Maus	Maus
Fluoreszenzfarbstoff	cFluor [®] B515 ¹	cFluor [®] B532 ¹	cFluor [®] B548 ¹	cFluor [®] R668 ¹	cFluor [®] R720 ¹	cFluor [®] V450	cFluor [®] BYG781 ²
Anregungswellenlänge	488 nm	488 nm	488 nm	640 nm	640 nm	405 nm	488 nm
Emissionspeak	515 nm	532 nm	548 nm	668 nm	720 nm	450 nm	781 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 µl, 100 µl und 1000 µl
- 12 x 75 mm-Röhrchen
- Vortexmischer
- Durchflussszytometer

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-CD4-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 % 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 % 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.

10. Leistungsmerkmale

10.1. Richtigkeit

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit jedem cFluor-konjugierten Anti-CD4-Reagenz gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Die Ergebnisse zum prozentualen Anteil der CD4⁺-T-Lymphozyten lagen innerhalb des vom Hersteller angegebenen Kontrollblut-Zielwertbereichs.

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der CD4 ⁺ -T-Lymphozyten				
CD4-Fluoreszenzfarbstoff	R1	R2	R3	Mittelwert	Zielwertbereich
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. Intra-Chargen-Präzision

Es wurden zehn Replikat-Röhrchen mit derselben Charge jedes cFluor-konjugierten Anti-CD4-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Variationskoeffizient (VK) des prozentualen Anteils der CD4⁺-T-Lymphozyten lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: Normalblut	Prozentualer Anteil der CD4 ⁺ -T-Lymphozyten		
CD4-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	% VK	Kriterium
cFluor B515	25,4	3,02	VK ≤ 15 %
cFluor B532	46,9	1,07	VK ≤ 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. Inter-Chargen-Präzision

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit drei Chargen jedes cFluor-konjugierten Anti-CD4-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Variationskoeffizient (VK) des prozentualen Anteils der CD4⁺-T-Lymphozyten lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der CD4 ⁺ -T-Lymphozyten		
CD4-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	% VK	Kriterium
cFluor B515	43,3	5,37	VK ≤ 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. Stabilität der Färbung

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit der gleichen Charge jedes cFluor-konjugierten Anti-CD4-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer zu folgenden Zeitpunkten analysiert: innerhalb von 2 Stunden (T0), 6 Stunden, 24 Stunden, 48 Stunden, 72 Stunden nach Färbung. Der prozentuale Anteil der CD4⁺-T-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 CD4 ⁺ -T-Lymphozyten					
CD4-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	Relative Differenz vs. 2 Std.				Kriterium
		6 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	
cFluor B515	48,3	0,14 %	1,75 %	2,83 %	3,22 %	Relative Differenz ≤ 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. 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-CD4-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer analysiert. Der Medianwert des prozentualen Anteils der CD4⁺-T-Lymphozyten jeder Verdünnungsstufe wurde mit dem Medianwert des prozentualen Anteils der CD4⁺-T-Lymphozyten aller Stufen verglichen, und die berechnete relative Differenz lag innerhalb der Akzeptanzkriterien.

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der CD4 ⁺ -T-Lymphozyten					
CD4-Fluoreszenzfarbstoff	Relative Differenz vs. 2 Std.					Kriterium
	Unverdünnt	2X Verdün- nung	4X Verdün- nung	8X Verdün- nung	16X Verdün- nung	
cFluor B515	1,50 %	-0,37 %	1,78 %	-1,08 %	-3,10 %	Relative Differenz ≤ 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. 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 und 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

- 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 und cFluor[®] R720 sind äquivalent zu CF[®] 488A, CF[®] 503R, CF[®] 514, CF[®] 647 bzw. CF[®] 700, die von Biotium, Inc. im Rahmen einer Vereinbarung zwischen Biotium und Cytex (LIZENZNEHMER) hergestellt und vertrieben werden. Die Herstellung, die Verwendung, der Verkauf, Verkaufsangebote oder der Import des Produkts sind durch eines oder mehrere der Patente oder anhängigen Anmeldungen abgedeckt, die Biotium besitzt oder lizenziert hat. Der Kauf dieses Produkts beinhaltet eine begrenzte, nicht übertragbare rechtliche Immunität gemäß den vorstehenden Patentansprüchen für die Verwendung nur der jeweils erworbenen Produktmenge für die eigene interne Forschung des Käufers. Kein Recht aus jeglichem anderen Patentanspruch, kein Recht zur Durchführung eines patentierten Verfahrens und kein Recht zur Erbringung kommerzieller Dienstleistungen jeglicher Art, einschließlich u. a. der Weitergabe der Ergebnisse der Aktivitäten des Käufers gegen eine Gebühr oder einer anderen kommerziellen Gegenleistung, wird abgetreten, weder ausdrücklich noch implizit noch durch Duldung.

²cFluor[®] BYG781 ist ein R-PE-Tandemkonjugat. Achtung: Tandemkonjugate können bei längerer Einwirkung von Licht oder Fixiermitteln Änderungen in ihren Emissionsspektren aufweisen.