



cFluor[®] Anti-Human CD45

Istruzioni per l'uso

Numero di catalogo	Test/flaconcino	Nome prodotto
R7-11009	100	cFluor [®] B690 Anti-Human CD45 (2D1)
R7-11010	25	cFluor [®] B690 Anti-Human CD45 (2D1)
R7-11011	100	cFluor [®] V547 Anti-Human CD45 (HI30)
R7-11012	25	cFluor [®] V547 Anti-Human CD45 (HI30)

Copyright e marchi commerciali

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



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 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 CD45 nei Paesi in cui è stata rilasciata l'approvazione normativa da parte delle autorità di regolamentazione locali.

2. Applicazione

L'anticorpo monoclonale CD45 si lega a isoforme del CD45 umano, una glicoproteina di membrana di tipo I di 180 - 240 kDa, anche nota come "LCA" (antigene leucocitario comune). Il CD45 è la prima proteina prototipica tirosina fosfatasi simil-recettore che si esprime su tutti i leucociti umani. È assente su eritrociti maturi, piastrine e cellule non ematopoietiche. L'anticorpo è coniugato con un fluoroforo e purificato mediante cromatografia di affinità.

3. Componenti

L'anticorpo monoclonale CD45 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	CD45	CD45
Clone	2D1	HI30
Sottotipo di immunoglobulina	IgG1, kappa	IgG1, kappa
Specie e genere	Topo	Topo
Colorante fluorescente	cFluor® B690 ²	cFluor® V547 ¹
Lunghezza d'onda di eccitazione	488 nm	405 nm
Picco di emissione	690 nm	547 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 CD45-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 CD45-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. I risultati della percentuale di linfociti CD45+ rientravano nell'intervallo di valori target di controllo del sangue indicato dal produttore.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti CD45+				
Colorante fluorescente CD45	R1	R2	R3	Media	Intervallo di valori target
cFluor B690	32,4	33,4	31,6	32,5	22,0 - 42,0
cFluor V547	31,1	31,2	31,2	31,2	20,9 - 40,9

10.2. Precisione intra-lotto

Dieci provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di ciascun reagente CD45-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. Il CV della percentuale di linfociti CD45+ è stato calcolato e rientrava nei criteri di accettazione.

Campione: sangue normale	Percentuale di linfociti CD45+		
Colorante fluorescente CD45	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor B690	31,7	1,18	CV ≤8%
cFluor V547	18,5	4,19	CV ≤15%

10.3. Precisione tra lotti

Tre provette di replicati sono state colorate con tre lotti di ciascun reagente CD45-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytex Northern Lights™. Il CV della percentuale di linfociti CD45+ è stato calcolato e rientrava nei criteri di accettazione.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti CD45+		
Colorante fluorescente CD45	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor B690	31,8	1,97	CV ≤8%
cFluor V547	30,7	4,52	

10.4. Stabilità di marcatura

Tre provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di ciascun reagente CD45-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 (solo per V457) dopo la marcatura. La percentuale di linfociti CD45+ 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 CD45+					
Colorante fluorescente CD45	Media (%)	Differenza relativa rispetto a 2 H				Criteri
		6 H	24 H	48 H	72 H	
cFluor B690	31,5	0,90%	0,47%	-0,06%	NA	Differenza relativa ≤10%
cFluor V547	30,3	-0,35%	-0,60%	-1,12%	-5,02%	

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 CD45-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. La mediana della percentuale di linfociti CD45+ a ciascun livello di diluizione è stata confrontata con la mediana della percentuale di linfociti CD45+ a tutti i livelli. È stata calcolata la differenza relativa, risultata entro i criteri di accettazione.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti CD45+					
Colorante fluorescente CD45	Differenza relativa					Criteri
	Non diluito	Diluizione 2X	Diluizione 4X	Diluizione 8X	Diluizione 16X	
cFluor B690	0,08%	1,10%	0,06%	0,06%	-0,67%	Differenza relativa ≤10%
cFluor V547	2,63%	2,39%	1,96%	-1,64%	-1,38%	

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 o 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

- Terry LA, et al. 1990. Immunology. 64:331
- Hermiston ML, et al. 2003. Annu Rev Immunol. 21:107

¹cFluor[®] V547 è equivalente a CF[®] 405L, prodotto e fornito da Biotium, Inc. ai sensi di un contratto tra Biotium e Cytex (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[®] B690 è un colorante tandem realizzato con PerCP. Attenzione: a seguito dell'esposizione prolungata alla luce o ai fissativi, i coloranti tandem possono mostrare variazioni degli spettri di emissione.