



# cFluor<sup>®</sup> Anti-Human HLA-DR (L243)

## Gebrauchsanleitung

Bestellnr.	Test/Fläschchen	Produktbezeichnung
R7-11101	100	cFluor <sup>®</sup> B515 Anti-Human HLA-DR (L243)
R7-11102	25	cFluor <sup>®</sup> B515 Anti-Human HLA-DR (L243)

## Copyright und Warenzeichen

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



Cytex 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 HLA-DR-Antigenmolekülen in Ländern bestimmt, in denen die Genehmigung der örtlichen Aufsichtsbehörden vorliegt.

## 2. Anwendung

Der monoklonale Antikörper L243 bindet an das humane HLA-DR-Antigen, ein heterodimeres, Transmembran-Glykoprotein an der Zelloberfläche mit einer schweren Alpha-Kette mit 36 kDa und einer leichten Beta-Kette mit 27 kDa, das zum HLA-II-Proteinkomplex (Human Leucocyte Antigen Complex II) gehört. HLA-DR bzw. Human Leucocyte Antigen-Isotyp DR ist auf der Oberfläche von antigenpräsentierenden Zellen wie B-Zellen, dendritischen Zellen, Makrophagen, Monozyten und aktivierten T-Zellen vorhanden. Die Proteinkomplexe der HLA-Klasse II regulieren das Immunsystem, indem sie eine zentrale Rolle bei der Bindung und Präsentation von Antigen-Peptiden gegenüber CD4-T-Zellen spielen, die für die jeweilige Peptid/HLA II-Kombination spezifisch sind. Der Antikörper ist an einen Fluorophor konjugiert und wurde mittels Affinitätschromatographie gereinigt.

## 3. Komponenten

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

Antikörperspezifität	HLA-DR
Klon	L243
Immunglobulin-Subtyp	IgG2a, kappa
Spezies und Gattung	Maus
Fluoreszenzfarbstoff	cFluor® B515 <sup>1</sup>
Anregungswellenlänge	488 nm
Emissionspeak	515 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
- 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-HLA-DR-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<sub>3</sub> 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<sub>3</sub> 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 Cytex oder besuchen Sie [cytekbio.com](http://cytekbio.com).

## 10. Leistungsmerkmale

### 10.1. Richtigkeit

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

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der HLA-DR <sup>+</sup> -Lymphozyten				
HLA-DR-Fluoreszenzfarbstoff	R1	R2	R3	Mittelwert	Zielwertbereich
cFluor B515	13,5	14,7	13,5	13,9	9,7–21,7

### 10.2. Intra-Chargen-Präzision

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

Probe: Normalblut	Prozentualer Anteil der HLA-DR <sup>+</sup> -Lymphozyten		
HLA-DR-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	% VK	Kriterium
cFluor B515	12,0	2,63	VK ≤ 15 %

### 10.3. Inter-Chargen-Präzision

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

Probe: CD-CHEX PLUS	Prozentualer Anteil der HLA-DR <sup>+</sup> -Lymphozyten		
HLA-DR-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	% VK	Kriterium
cFluor B515	14,7	5,43	VK ≤ 15 %

## 10.4. Stabilität der Färbung

Es wurden drei Replikat-Röhrchen mit der gleichen Charge jedes cFluor-konjugierten Anti-HLA-DR-Reagenzes gefärbt und auf einem Cytek Northern Lights™ Durchflusszytometer zu folgenden Zeitpunkten analysiert: innerhalb von 2 Stunden (T0), 24 Stunden und 48 Stunden nach Färbung. Der prozentuale Anteil der HLA-DR<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 HLA-DR <sup>+</sup> -Lymphozyten			
HLA-DR-Fluoreszenzfarbstoff	Durchschnitt (%)	Relative Differenz vs. 2 Std.		Kriterium
		24 Std.	48 Std.	Relative Differenz ≤ 20 %
cFluor B515	13,0	3,49 %	1,36 %	

## 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

- Korman, A J et al. 1982. Proc Natl Acad Sci U S A. 79(19):6013-6017
- Shackelford DA, et al. 1982. Immunol Rev. 66:133-87
- Walseng E, et al. 2008. J Biol Chem. 23;283(21):14717-2

<sup>1</sup>cFluor® B515 ist äquivalent zu CF® 488A, das von Biotium, Inc. im Rahmen einer Vereinbarung zwischen Biotium und Cytek (LIZENZNEHMER) hergestellt und vertrieben wird. 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, insbesondere 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.