



cFluor[®] Anti-Human HLA-DR (L243)

Istruzioni per l'uso

Numero di catalogo	Test/flaconcino	Nome prodotto
R7-11101	100	cFluor [®] B515 Anti-Human HLA-DR (L243)
R7-11102	25	cFluor [®] B515 Anti-Human HLA-DR (L243)

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

2. Applicazione

L'anticorpo monoclonale L243 si lega all'antigene umano HLA-DR, una glicoproteina eterodimerica di superficie cellulare composta da una catena pesante alfa di 36 kDa e una catena leggera beta di 27 kDa nella famiglia transmembrana del complesso maggiore di istocompatibilità di classe 2 (MHC II). L'HLA-DR, anche noto come "isotipo DR dell'antigene leucocitario umano", è presente sulla superficie delle cellule presentanti l'antigene, comprese le cellule B, le cellule dendritiche, i macrofagi, i monociti e le cellule T attivate. L'MHC di classe II regola il sistema immunitario svolgendo un ruolo fondamentale nel legare e presentare i peptidi derivati dall'antigene alle cellule T CD4 specifiche per il peptide-MHC II. L'anticorpo è coniugato con un fluoroforo e purificato mediante cromatografia di affinità.

3. Componenti

L'anticorpo monoclonale HLA-DR 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	HLA-DR
Clone	L243
Sottotipo di immunoglobulina	IgG2a, kappa
Specie e genere	Topo
Colorante fluorescente	cFluor® B515 ¹
Lunghezza d'onda di eccitazione	488 nm
Picco di emissione	515 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 HLA-DR-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 il reagente HLA-DR-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™. I risultati della percentuale di linfociti HLA-DR+ rientravano nell'intervallo di valori target di controllo del sangue indicato dal produttore.

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti HLA-DR+				
Colorante fluorescente HLA-DR	R1	R2	R3	Media	Intervallo di valori target
cFluor B515	13,5	14,7	13,5	13,9	9,7 - 21,7

10.2. Precisione intra-lotto

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

Campione: sangue normale	Percentuale di linfociti HLA-DR+		
Colorante fluorescente HLA-DR	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor B515	12,0	2,63	CV ≤15%

10.3. Precisione tra lotti

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

Campione: CD-CHEX PLUS	Percentuale di linfociti HLA-DR+		
Colorante fluorescente HLA-DR	Media (%)	% CV	Criteri
cFluor B515	14,7	5,43	CV ≤15%

10.4. Stabilità di marcatura

Tre provette di replicati sono state colorate con lo stesso lotto di reagente HLA-DR-cFluor coniugato e analizzate sul citometro a flusso Cytek Northern Lights™ nei seguenti punti temporali: entro 2 ore (T0), 24 ore e 48 ore dopo la marcatura. La percentuale di linfociti HLA-DR+ 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 HLA-DR+			
Colorante fluorescente HLA-DR	Media (%)	Differenza relativa rispetto a 2 H		Criteri
		24 H	48 H	Differenza relativa ≤20%
cFluor B515	13,0	3,49%	1,36%	

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

- 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

¹cFluor® B515 è equivalente a CF® 488A, 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.