

Monoclonal Mouse Anti-Human CD16, Fc Gamma Receptor III/FITC, Clone DJ130c Code F7011
Monoclonal Mouse Anti-Human CD16, Fc Gamma Receptor III/RPE, Clone DJ130c Code R7012

ENGLISH

Intended use	For in vitro diagnostic use. F7011 and R7012 are intended for use in flow cytometry. The immunological status of patients can be determined by assessing the level of CD16+ natural killer (NK) cells, and a simultaneous detection of other NK-cell markers and enumeration of other lymphocyte subpopulations. Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.									
Synonym for antigen	Low affinity Fc receptor for IgG (FcγRIII).									
Summary and explanation	CD16 is a 50-70 kDa glycoprotein which occurs in two isoforms, CD16a and CD16b. CD16a is a transmembrane molecule expressed on about 90% of NK cells and also found on macrophages and subsets of monocytes and T cells. CD16b is glycosyl phosphatidyl inositol-anchored and is expressed on virtually all neutrophils. CD16b is polymorph with two alleles termed NA1 and NA2 (1, 2). CD16 represents the functional receptor for antibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC). Thus, CD16 ^{bright} , CD56 ^{dim} NK cells have high ADCC, whereas CD16 ^{dim} , CD56 ^{bright} cells have high lymphokine-activated killer (LAK) activity (3). Phenotyping and quantitation of NK cells, together with evaluation of other lymphocyte subpopulations can be of great importance in various disorders, and may provide prognostic information (4-6).									
Reagent provided	The Anti-CD16 conjugates, F7011 and R7012, have been produced from a purified monoclonal mouse antibody. The conjugates are provided in liquid form in buffer containing 1% bovine serum albumin (BSA) and 15 mmol/L NaN ₃ , pH 7.2. Each vial contains 100 tests (10 µL of conjugate for up to 10 ⁶ leucocytes from normal human peripheral blood). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Conjugate concentration mg/L:</u> See label on vial.									
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Antibody Code</th> <th>Fluorochrome</th> <th>Negative Control Code</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>F7011</td> <td>FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)</td> <td>X0927</td> </tr> <tr> <td>R7012</td> <td>RPE (R-Phycoerythrin)</td> <td>X0928</td> </tr> </tbody> </table>	Antibody Code	Fluorochrome	Negative Control Code	F7011	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X0927	R7012	RPE (R-Phycoerythrin)	X0928
Antibody Code	Fluorochrome	Negative Control Code								
F7011	FITC (Fluorescein Isothiocyanate Isomer 1)	X0927								
R7012	RPE (R-Phycoerythrin)	X0928								
Specificity	Anti-CD16, DJ130c, was included in the Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens, and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD16 (7). The antibody reacts with CD16a and both variants of CD16b. The epitope has been located to the first membrane-distal domain of CD16 (2).									
Precautions	<ol style="list-style-type: none"> For professional users. This product contains sodium azide (NaN₃), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations. 									
Storage	Store in the dark at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact our Technical Services.									
Staining procedure	<ol style="list-style-type: none"> Collect venous blood into a test tube containing an anticoagulant. Isolate mononuclear cells by centrifugation on a separation medium. Alternatively, lyse the red cells after step 6. Wash the mononuclear cells twice with RPMI 1640 or PBS, pH 7.2-7.4. Mix 100 µL cell suspension with 10 µL fluorochrome-conjugated Anti-CD16. Use a non-reactive monoclonal antibody of the same isotype, and conjugated with the same fluorochrome, as a negative control (see table). Incubate in the dark at 4 °C for 30 minutes. Wash twice with PBS containing 2% BSA. Resuspend the cells in an appropriate fluid for flow cytometry, e.g. 0.3 mL 1% paraformaldehyde (fixative) in 0.01 mol/L PBS, pH 7.4. Analyse on a flow cytometer. <p>It is recommended to include a suitable positive and negative control sample with each run for reagent and preparation control. Note that fluorochrome conjugates are light sensitive, and samples should be protected from light during the staining procedure and until the analysis.</p>									

FRANÇAIS

Intérêt	Pour diagnostic <i>in vitro</i> . F7011 et R7012 sont destinés pour un usage en cytométrie de flux. Le statut immunologique des patients peut être déterminé en évaluant le niveau de cellules tueuses (NK) CD16+, et une détection simultanée d'autres marqueurs de cellules tueuses NK et le dénombrement d'autres sous-populations lymphocytaires. L'interprétation des résultats doit être entreprise par un professionnel certifié dans le contexte de l'histoire clinique du patient ainsi que des autres examens diagnostics.									
Synonyme pour l'antigène	Récepteur Fc à faible affinité pour IgG (FcγRIII).									
Résumé et explication	CD16 est une glycoprotéine de 50-70 kDa qui se manifeste sous deux isoformes, CD16a et CD16b. CD16a est une molécule transmembranaire exprimée sur approximativement 90% des cellules NK et trouvée aussi sur les macrophages et sous-populations de monocytes et de cellules T. CD16b a une ancre glycosyl phosphatidyl inositol et est exprimé sur quasiment tous les neutrophiles. CD16b est polymorphe à deux allèles NA1 et NA2 (1, 2). CD16 représente le récepteur fonctionnel pour la cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps (ADCC). Ainsi, les cellules NK CD16 ^{bright} , CD56 ^{dim} ont un niveau élevé d'ADCC, alors que les cellules CD16 ^{dim} , CD56 ^{bright} ont une activité élevée de cellules tueuses activées à la lymphokine (LAK) (3). Le phénotypage et la quantification des cellules K, en association avec l'évaluation des autres sous-populations lymphocytaires peuvent être d'importance majeure dans des troubles variés, et peut fournir des données pronostiques (4-6).									
Réactif fourni	Les conjugués Anti-CD16, F7011 et R7012, ont été produits à partir d'un anticorps monoclonal purifié de souris. Les conjugués sont fournis à l'état liquide dans un tampon contenant 1% d'albumine sérique bovine (BSA) et 15 mmol/L de NaN ₃ , à 7,2 de pH. Chaque flacon contient 100 tests (10 µL de conjugué pouvant traiter jusqu'à 10 ⁶ de leucocytes provenant de sang périphérique normal humain). <u>Isotype:</u> IgG1, kappa. <u>Concentration du conjugué mg/L:</u> Voir l'étiquette sur le flacon de l'échantillon.									
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Code de l'anticorps</th> <th>Fluor</th> <th>Code du Contrôle Négatif</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>F7011</td> <td>FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)</td> <td>X0927</td> </tr> <tr> <td>R7012</td> <td>RPE (R-Phycoérythrine)</td> <td>X0928</td> </tr> </tbody> </table>	Code de l'anticorps	Fluor	Code du Contrôle Négatif	F7011	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X0927	R7012	RPE (R-Phycoérythrine)	X0928
Code de l'anticorps	Fluor	Code du Contrôle Négatif								
F7011	FITC (Isomère 1 d'isothiocyanate de fluorescéine)	X0927								
R7012	RPE (R-Phycoérythrine)	X0928								
Spécificité	Anti-CD16, DJ130c, a été examiné durant la Cinquième Conférence-Atelier Internationale sur les Antigènes de Différenciation de Leucocytes Humains et des études menées par un nombre de laboratoires ont mis en évidence sa réactivité avec CD16 (7). L'anticorps montre une réaction au CD16a et aux deux variantes de CD16b. L'épitope a été localisé dans la première partie distale de la membrane de CD16 (2).									
Précautions d'emploi	<ol style="list-style-type: none"> Pour utilisateurs professionnels. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN₃), un composé chimique hautement toxique à l'état pur. Aux concentrations du produit, bien qu'il ne soit pas classé comme étant nuisible, l'azide de sodium peut réagir avec la tuyauterie en plomb et en cuivre pour former des dépôts hautement explosifs d'azides métallisés. Lors de l'élimination du produit, laisser couler l'eau à flot pour éviter toute accumulation d'azides métallisés dans la tuyauterie. Comme pour tout dérivé biologique dangereux à manipuler, une précision s'impose. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales. 									
Stockage	Conserver à l'obscurité entre 2° et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption mentionnée sur le flacon. Si les réactifs ont été conservés dans d'autres conditions que celles spécifiées, ces conditions doivent être vérifiées par l'utilisateur. Il n'existe pas de signe particulier pour indiquer l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles doivent être opérés simultanément avec les échantillons du patient. En cas de résultats imprévus qui ne peuvent pas être expliqués par des changements de procédures de laboratoire et qu'un problème avec le produit est suspecté, contactez nos Services Techniques.									
Procédure d'immunomarquage	<ol style="list-style-type: none"> Prélever le sang veineux dans un tube à essais contenant un anticoagulant. Isoler les cellules mononucléaires par centrifugation dans un milieu de séparation. Sinon, lyser les globules rouges après l'étape 6. Laver les cellules mononucléaires deux fois avec du RPMI 1640 ou du PBS, à 7,2-7,4 de pH. Mélanger 100 µL de suspension cellulaire avec 10 µL d' Anti-CD16 conjugué au fluorochrome. Utiliser un anticorps monoclonal non-réactif du même isotype, conjugué au même fluorochrome, en tant que contrôle négatif (voir tableau). Laisser incubé à l'obscurité, à 4 °C, pendant 30 minutes. Laver deux fois avec du PBS contenant 2% de BSA. Re-suspendre les cellules dans un liquide approprié pour la cytométrie de flux, par ex : 0,3 mL de paraformaldéhyde à 1% (fixateur) dans 0,01 mol/L PBS, pH 7,4. Analyser sur un cytomètre en flux. <p>Il est recommandé d'inclure un échantillon de contrôle positif et négatif appropriés à chacune des exécutions pour le contrôle du réactif et de la préparation. Noter que les conjugués fluorochromes sont sensibles à la lumière, et les échantillons doivent être protégés de cette dernière au cours de la procédure d'immunomarquage et jusqu'à l'analyse.</p>									

Zweckbestimmung Zur Verwendung für In-vitro-Untersuchungen. F0711 und R7012 sind für den durchflusszytometrischen Gebrauch bestimmt. Der immunologische Status eines Patienten kann über die Bestimmung des CD16+ NK-Zellenspiegels und den gleichzeitigen Nachweis anderer NK-Zellenmarker sowie die Zählung sonstiger Lymphozyten-Subpopulationen ermittelt werden. Die Befunde müssen unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese des Patienten und im Kontext weiterer diagnostischer Verfahren von einem zertifizierten Facharzt interpretiert werden.

Synonyme Bezeichnungen des Antigens Niedrigaffiner Fc-Rezeptor für IgG (FcγRIII).

Zusammenfassung und Erklärung CD16 ist ein 50-70 kDa schweres Glykoprotein, welches in zwei Isoformen, CD16a und CD16b auftritt. CD16a ist ein Transmembranmolekül, das auf circa 90% aller NK-Zellen exprimiert und auch auf Makrophagen sowie einem Teil der Monozyten und T-Zellen nachgewiesen wird. CD16b ist über Glykosyl-Phosphatidyl-Inositol verankert und wird auf praktisch allen Neutrophilen exprimiert. CD16b ist mit zwei Allelen, als NA1 und NA2 bezeichnet, polymorph (1, 2). CD16 repräsentiert den funktionalen Rezeptor für die antikörperabhängige zelluläre Zytotoxizität (antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC). Demzufolge haben CD16^{bright}, CD56^{dim} NK-Zellen hohe ADCC, während CD16^{dim}, CD56^{bright}-Zellen eine Lymphokin-aktivierte Killer-Aktivität (LAK) zeigen (3). Die Phänotypisierung und quantitative Bestimmung der NK-Zellen kann zusammen mit der Bewertung weiterer Lymphozyten-Subpopulationen bei verschiedenen Erkrankungen große Bedeutung besitzen und möglicherweise prognostische Information bereitstellen (4-6).

Delivered Reagent Die Anti-CD14 Konjugate F7011 und R7012 stammen von einem gereinigten monoklonalen Maus-Antikörper. Die Konjugate werden in einer gepufferten Lösung mit 1 % bovinem Serumalbumin (BSA) und 15 mmol/l Na₃, pH 7,2, geliefert. Jedes Fläschchen ist ausreichend für 100 Tests (10 µl des Konjugats sind für bis 10⁶ Leukozyten aus normalem, menschlichem peripheren Blut ausreichend).

Isotyp: IgG1, Kappa. **Konjugat-Konzentration mg/l:** Siehe Produktetikett.

Antikörper Code-Nr.	Fluorochrom	Negativkontrolle Code- Nr.
F7011	FITC (Fluoresceinisothiocyanat-Isomer 1)	X0927
R7012	RPE (R-Phycoerythrin)	X0928

Spezifität Anti-CD16, DJ130c, wurde im Kontext des Fifth International Workshop and Conference on Human Human Leucocyte Differentiation Antigens aufgenommen und Studien in einigen Laboratorien bestätigten seine Reaktivität mit CD16 (7). Der Antikörper reagiert mit CD16a und mit beiden Varianten von CD16b. Das Epitop wurde in der ersten distal der Membran gelegenen Domäne von CD16 lokalisiert (2).

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Für geschultes Fachpersonal.
- Dieses Produkt enthält Natrium-Azid (NaN₃), eine in reiner Form hochtoxische chemische Verbindung. Bei den in diesem Produkt verwendeten Konzentrationen kann Natrium-Azid, obwohl nicht als gefährlich klassifiziert, mit in Wasserleitungen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Bildung von hochexplosiven Metall-Azid-Anreicherungen führen. Nach der Entsorgung muss mit reichlich Wasser nachgespült werden, um Metall-Azid-Anreicherung zu vermeiden.
- Wie bei allen aus biologischen Materialien gewonnenen Produkten müssen die ordnungsgemäßen Handhabungsverfahren eingehalten werden.
- Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
- Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung Im Dunkeln bei 2-8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Produkt angegebenen Verfallsdatum verwenden. Sollten die Reagenzien unter anderen Bedingungen als den beschriebenen aufbewahrt worden sein, so müssen diese vom Anwender verifiziert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anhaltspunkte für die mögliche Instabilität dieses Produktes. Es sollten daher die Positiv- und Negativkontrollen gleichzeitig mit den Patientenproben mitgeführt werden. Wenn unerwartete Anfärbung beobachtet wird, welche durch Änderungen in den Labormethoden nicht erklärt werden kann und falls Verdacht auf ein Problem mit dem Antikörper besteht, ist bitte Kontakt mit unserem technischen Kundendienst aufzunehmen.

Färbeprozedur









- Venöses Blut in ein Antikoagulans enthaltendes Probenröhrchen gewinnen.
- Mononukleäre Zellen durch Zentrifugieren in einem Abtrennungsmittel isolieren. Alternativ hierzu können die Erythrozyten im Anschluss an Schritt 6 aufgelöst werden.
- Mononukleäre Zellen zweimal mit RPMI 1640 oder mit PBS, pH 7,2 – 7,4, waschen.
- 100 µl der Zellsuspension mit 10 µl des fluorochromkonjugierten Anti-CD16 mischen.
- Als Negativkontrolle einen nicht reaktiven, monoklonalen Antikörper des gleichen Isotyps, konjugiert an dasselbe Fluorochrom, verwenden (s. Tabelle).
- Im Dunkeln bei 4 °C 30 Minuten lang inkubieren.
- Zweimal mit PBS waschen, das 2 % BSA enthält. Die Zellen in einer für Durchflusszytometrie geeigneten Flüssigkeit, z. B. 0,3 ml 1%igem Paraformaldehyd (Fixativ) in 0,01 mol/l PBS, pH 7,4, resuspendieren.
- Im Durchflusszytometer analysieren.

Es wird empfohlen, eine geeignete Positiv- und Negativkontrolle für jede Durchführung der Reagenz- und Präparationsprüfung mitzuführen. Es ist zu beachten, dass Fluoreszenzkonjugate lichtempfindlich sind und dass die Proben während des Färbeprozesses und bis zur Durchführung der Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

References/ Références/ Literatur

- Tetteroo PAT, Van Der Schoot CE, Visser FJ, Bos MJE, Von Dem Borne AEGKR. M5.3. Three different types of Fcγ receptors on human leucocytes defined by Workshop antibodies; FcγR_{LOW} of neutrophils, FcγR_{LOW} of K/NK lymphocytes, and FcγRII. In: McMichael AJ, Beverley PCL, Cobbold S, Crumpton MJ, Gilks W, Gotch FM, et al., editors. Leucocyte typing III. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 3rd International Workshop and Conference; 1986 Sep 21-26; Oxford, England. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1987. p. 702-6.
- Tamm A, Schmidt RE. The binding epitopes of human CD16 (FcγRIII) monoclonal antibodies. Implications for ligand binding. J Immunol 1996;157:1576-81.
- Cooper MA, Fehniger TA, Caligiuri MA. The biology of human natural killer-cell subsets. Trends Immunol 2001;22:633-40.
- Hu PF, Hultin LE, Hultin P, Hausner MA, Hirji K, Jewett A, et al. Natural killer cell immunodeficiency in HIV disease is manifest by profoundly decreased numbers of CD16⁺CD56⁺ cells and expansion of a population of CD16^{dim} CD56⁺ cells with low lytic activity. J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol 1995;10:331-40.
- Bruunsgaard H, Pedersen C, Skinhøj P, Pedersen BK. Clinical progression of HIV infection: role of NK cells. Scand J Immunol 1997;46:91-5.
- Emmer PM, Nelen WL, Steegers EA, Hendriks JC, Veerhoek M, Joosten I. Peripheral natural killer cytotoxicity and CD56^{pos}CD16^{pos} cells increase during early pregnancy in women with a history of recurrent spontaneous abortion. Hum Reprod 2000;15:1163-9
- Schmidt RE. M6. CD16 cluster workshop report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, et al., editors. Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 5th International Workshop and Conference; 1993 Nov 3-7; Boston, USA. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. Volume 2. p. 805-6.

Explanation of symbols/ Légende des symboles/ Erläuterung der Symbole

 Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Keep away from sunlight (consult storage section) Conserver à l'écart du soleil (se reporter à la section conservation) Lichtgeschützt lagern (siehe Abschnitt zur Lagerung)	 Manufacturer Fabricant Hersteller
 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Batch code Code du Lot Chargenbezeichnung	