

货号: B53346

1/7



DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管说明书

	成分 1 规格	成分 2 规格	成分 3 规格	成分 4 规格	成分 5 规格	成分 6 规格	成分 7 规格	成分 8 规格
特异性	CD45RA	CD25	CD39	CD4	FoxP3	CD3	Helios	CD45
克隆	2H4LDH11LDB9(2H4)	B1.49.9	BA54	SFC112T4D11(T4)	259D	UCHT-1	22F6	J33
免疫原	源自夜猴的 T 淋巴细胞	人同种激活 T 淋巴细胞 (FC2)	CD4+ CD8+ 胸腺克隆 B12	外周血淋巴细胞	人 FOXP3 重组蛋白	T 细胞系+IL2	Helios 肽 (aa51-107)	Laz 221 细胞系
同型对照	IgG1	IgG2a	IgG1 kappa	IgG1	IgG1 kappa	IgG1 kappa	IgG	IgG1 kappa
种属	小鼠	小鼠	小鼠	小鼠	小鼠	小鼠	仓鼠	小鼠
来源	条件培养基	腹水或体外培养杂交瘤细胞的上清液	上清液	条件培养基	腹水或体外培养杂交瘤细胞的上清液	腹水	纯化	腹水
纯化	亲和层析	亲和层析	亲和层析	亲和层析	亲和层析	离子交换或亲和层析	亲和层析	亲和层析
荧光染料	异硫氰酸荧光素 (FITC)	R-藻红蛋白 (PE)	R-藻红蛋白-花青苷 5.5 (PC5.5)	R-藻红蛋白-花青苷 7 (PC7)	Alexa Fluor 647 (A647)	别藻蓝蛋白-Alexa Fluor 750 (APC-A750)	Pacific Blue (PBE)	Krome Orange (KrO)
λ 激发	488 nm	488 nm	488 nm	488 nm	633 / 638 nm	633 / 638 nm	405 nm	405 nm
发射峰	525 nm	575 nm	692 nm	770 nm	665 nm	775 nm	455 nm	528 nm
浓度	<1%w/w 总蛋白质							

REF B53346 – 25 测试

IFU- B53346-2.0

【产品名称】

通用名称: DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管

英文名称: DURAClone IM Treg Tube

仅供研究使用。

不用于诊断程序。

【背景】

调节性 T 细胞 (Treg) 在诱导和维持免疫耐受方面发挥着至关重要的作用。转录因子 FoxP3 的表达与 CD4 和 CD25 一起被视为人调节性 T 细胞的标志 (CD3+CD4+CD25+ FoxP3+)。¹Helios 是 *Ikaros* 家族的一种转录因子, 已被视为识别胸腺衍生的 nTreg (与外周组织诱导的 Treg (iTreg) 相对) 的标志物。此外, Helios 还具有增强调节功能的作用。²

胞外酶 CD39 的表面表达通过其 ATP 酶活性发挥抑制功能, 并局限于 Treg 效应/记忆类亚群。³CD45RA 表面表达显示 Treg 的初始或未引发亚群。⁴

【应用】

DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管可用于通过八色流式细胞术识别人全血样本中的调节性 T 细胞亚群。

【检验原理】

本品基于特异性单抗与 T 淋巴细胞亚群表达的抗原决定簇结合的能力。通过在 DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管 1 中孵育样本, 对 T 淋巴细胞进行特异性表面染色。

PerFix-nc 缓冲液 1 用于固定细胞, 缓冲液 2 用于诱导 T 淋巴细胞细胞质膜和核膜的渗透性, 以便对 DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管中的细胞内决定簇进行染色

2. 进行透化时, 流式细胞仪测量细胞的光散射和荧光, 这使得可以通过二元直方图界定电子门内的目标细胞群体, 进而与光正交漫射 (侧向散射或 SS) 和窄角光漫射 (前向散射或 FS) 关联起来。结合流式细胞仪上两个不同参数的其他二元直方图 (散点图) 可用于进一步定位电子门, 以便选择相关细胞群, 进一步分析各自的光散射和荧光参数。

【试剂盒内容物】

DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管包含以下内容物:

- 可进行 25 次测试的 DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管 1
- 可进行 25 次测试的 DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管 2
- 3 个补偿试剂盒, 包含:
 - CD4-FITC
 - CD4-PE
 - CD39-PC5.5
 - CD4-PC7
 - FoxP3-A647
 - CD3-APC-A750
 - CD4-PBE
 - CD8-Krome Orange

注: 对于串联染料, 提供批号匹配的补偿管。对于非串联染料, 补偿管不进行批次匹配。

【警告声明】

SDS 化学品安全技术说明书提供于 beckman.com/techdocs

1. 根据相关规定丢弃试剂和/或补偿管。

2. 不得冷藏试管；不得冻/融试管。
3. 使用的所有生物标本必须视为具有潜在传染性，并应小心处理。处理这些样本时必须使用防护手套、防护服和护目镜。
4. 切勿使用超过标签所示有效期的试剂。
5. 处理标本和试剂时遵循药物非临床研究质量管理规范（GLP）。
6. 采集前尽量不要让试管暴露于光线下，尤其是在孵育荧光抗体染色标本或处理标本期间。
7. 确保在倒转试剂管和/或补偿管之前盖紧管盖，以防混合时溢出。
8. 建议遵循制造商指南或说明进行仪器校准或鉴定。
9. 试剂管必须储存在装有干燥剂包的密封袋中，以防止试剂管受潮。
10. 本试剂含<0.1%叠氮钠。叠氮钠在酸性条件下会生成剧毒化合物-叠氮酸。丢弃时，应使用流动水冲洗叠氮化物。建议采取以上预防措施以免在金属管道中沉积（可能引起爆炸）。如果接触到皮肤或眼睛，请用水长时间清洗。
11. 确保使用最新版本的使用说明书（IFU）。可从 beckman.com/techdocs 下载。
12. 建议遵循制造商指南或说明来储存未提供的必需材料。

【储存条件】

将试剂储存在 18 至 30°C 之间，干燥、避光、防潮保存。试剂可稳定储存 18 个月（在未开封的原装封闭袋中）。取出所需试管后，将装有剩余试管的包装袋与袋内干燥剂袋重新密封。一旦打开包装袋，在 90 天内使用试剂。

【变质证据】

试剂管的任何损坏可能均表明产品变质，并且不应使用该产品。请联系您当地的经销商，或通过以下电子邮件地址联系贝克曼库尔特：duraclone-support@beckman.com

【仪器要求】

本试剂预期用于至少具备以下功能的流式细胞仪：

- 488 nm 激光器，其检测器专用于检测 505 - 790 nm 范围内的光散射（前向和侧向）和荧光发射。
- 638 nm 激光器，其检测器专用于检测 650 - 790 nm 范围内的荧光发射。
- 405 nm 激光器，其检测器专用于检测 425 - 570 nm 范围内的荧光发射。

应遵循设备制造商提供的使用说明/手册进行仪器设置、启动、操作、维护和校准。

【标本采集】

本产品使用新鲜全血进行测试，该新鲜全血采集在 K₂EDTA 抗凝剂中并在 18-25°C 之间储存。对于其他标本类型和抗凝剂，建议用户针对其具体应用验证试剂性能。

【未提供的必需材料】

含 K₂EDTA 的采血管

经校准的移液器（适用于 5 至 1000 μL 体积）

涡旋混合器

鞘液

流式细胞仪精密度质控微球 (REF.A69183) (用于 Navios 校准验证)

流式细胞仪质控微球 (REF.A69184) (用于 Navios 标准化)

VersaComp 抗体捕获微球试剂盒 (REF B22804) (用于补偿设置)

PerFix-nc 试剂盒 (REF. B31168 / REF.B31167) -包含 PerFix-nc 缓冲液 1 (固定试剂)、缓冲液 2 (透化试剂) 和缓冲液 3 (最终 10 倍溶液)

胎牛血清 (100%)

磷酸盐缓冲液 (PBS) (1X)

流式细胞仪

【程序】

样本制备

1. 在 DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管 1 中加入 50 μ L 新鲜全血, 高速涡旋 6-8 秒。在 20 至 30°C 下将试管 1 避光孵育 15 分钟。
2. 向试管中加入 3 mL 1XPBS 溶液, 在 20 至 30°C 下以 500 \times g 的离心力离心 5 分钟。
3. 吸出上清液。轻轻涡旋细胞团块 6-8 秒。使用 50 μ L 100%胎牛血清重新悬浮试管 1 中的细胞团块。
4. 在试管中加入 5 μ L PerFix-nc 试剂缓冲液 1 (固定试剂) 并涡旋 6-8 秒。
5. 在 20 至 30°C 下将试管 1 避光孵育 15 分钟。
6. 向试管 1 中加入 400 μ L PerFix-nc 缓冲液 2 (透化试剂) 并涡旋 6-8 秒。
7. 将 DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管 1 中的内容物转移至 DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管 2 中
8. 将试管 2 涡旋 6-8 秒。在 20 至 30°C 下将试管 2 避光孵育 60 分钟。
9. 在试管 2 中加入 3 mL 1XPBS 并孵育 5 分钟。
10. 在 20 至 30°C 下以 500 \times g 的离心力对试管 2 离心 5 分钟。
11. 吸出上清液。轻轻涡旋细胞团块 6-8 秒。使用 3 mL 1X PerFix-nc 缓冲液 3 重新悬浮细胞团块 (缓冲液 3 为 10 倍, 必须用蒸馏水稀释以配制 1 倍溶液)。
12. 在 20 至 30°C 下以 500 \times g 的离心力对试管离心 5 分钟。吸出上清液。轻轻涡旋细胞团块 6-8 秒。使用 500 μ L 1X PerFix-nc 缓冲液 3 重新悬浮细胞团块。
13. 现在可以采集样本。

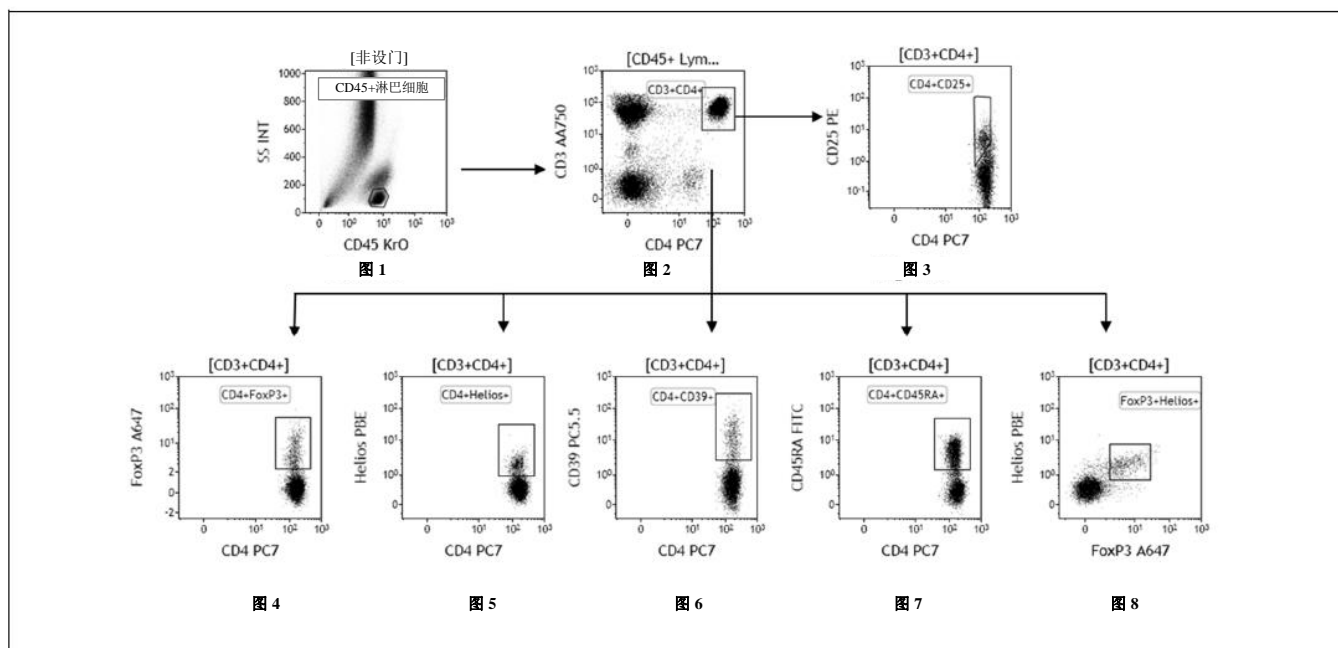
【补偿设置】

1. 在 DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管盒所提供的单个补偿试剂盒中的 8 色补偿管中分别加入 50 μ L 新鲜全血。
2. 在以下补偿管中加入两滴阳性 VersaComp 抗体捕获微球:
 - a. CD39-PC5.5 补偿管
 - b. FoxP3-A647 补偿管
3. 将所有 8 支补偿管高速涡旋 6-8 秒, 然后将试管在 20-30°C 条件下避光孵育 15 分钟。
4. 按照样本制备程序中的步骤 2-6 处理所有 8 支补偿管中的血液样本。
5. 请勿遵循样本制备程序中的步骤 7, 而是执行样本制备程序中所列的步骤 8 至 13。
6. Navios 样本采集*:
 - a. Navios 的自动设置安排程序 (AutoSetup Scheduler) 会在同时设置多个应用程序时有效设置从通常的补偿样本中进行采样的所选应用程序分组, 并通过旋转架加载报告, 从而使日常质量控制设置和样

本加载更轻松。有关使用自动设置安排程序设置补偿, 请参阅应用说明“高浓度 DURAClone 试剂的补偿设置”, 该说明可从 Beckman Coulter 网站下载: <https://media.beckman.com/-/media/pdf-assets/application-notes/flow-cytometry-reagents-duraclone-appnote-compensation-setup.pdf>

7. 对于其他流式细胞仪的样本采集, 请遵循标准程序和仪器制造商说明进行补偿设置。

【样本分析 (示例)】



1. 创建合适的分析方案, 据此确定细胞群门和系列双参数图, 用于分析。
2. 针对 FS 参数设置阈值, 设定一个足够低的值, 以确保淋巴细胞不被排除在采集范围之外。
3. 创建 CD45-KrO 与 SSC 散点图, 并应用白细胞门。创建一个包含 CD45+ 淋巴细胞的区域 (图 1)。
4. 创建 CD4-PC7 与 CD3-AA750 散点图, 并绘制一个用以对 CD3+CD4+ T 细胞进行设门的区域 (图 2)。
5. 创建以下散点图,
6. 并在这些图上应用 CD3+CD4+ 门:
 - a. 创建 CD4-PC7 与 CD25-PE 散点图, 并对 CD4+CD25+ 细胞群进行设门 (图 3)。
 - b. 创建 CD4-PC7 与 FoxP3-A647 散点图, 并对 CD4+FoxP3+ 细胞群进行设门 (图 4)。
 - c. 创建 CD4-PC7 与 Helios-PBE 散点图, 并对 CD4+Helios+ 细胞群进行设门 (图 5)。
 - d. 创建 CD4-PC7 与 CD39-PC5.5 散点图, 并对 CD4+CD39+ 细胞群进行设门 (图 6)。
 - e. 创建 CD4-PC7 与 CD45RA-FITC 散点图, 并对 CD4+CD45RA+ 细胞群进行设门 (图 7)。
 - f. 创建 FoxP3-A647 与 Helios-PBE 散点图, 并对 FoxP3+Helios+ 细胞群进行设门 (图 8)。

【参考文献】

1. Naturally occurring regulatory T cells: markers, mechanisms, and manipulation. Klaus G. Schmetterer, Alina Neunkirchner and Winfried F. Pickl. FASEB J. 2012 Jun; 26(6):2253-76.
2. Advances in distinguishing natural from induced Foxp3+ regulatory T cells. Xiaohong Lin, Maogen Chen, Ya Liu, Zhiyong Guo, Xiaoshun He, David Brand, Song Guo Zheng. Int J Clin Exp Pathol. 2013.
3. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. Silvia Deaglio, Karen M. Dwyer, Wenda Gao, David Friedman, Anny Usheva, Anna Erat,

Jiang-Fan Chen, Keiichii Enjoji, Joel Linden, Mohamed Oukka, Vijay K. Kuchroo, Terry B. Strom and Simon C. Robson. J Exp Med, Jun 11 2007.

4. A peripheral circulating compartment of natural naive CD4 Tregs. Valmori, D., A. Merlo, N. E. Souleimanian, C. S. Hesdorffer, M. Ayyoub. J. Clin. Invest. 2005 (115): 1953–1962.

【产品可用性】

DuraClone 免疫表型 Treg 细胞管

 B53346

【商标】

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是贝克曼库尔特（美国）股份有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

可能涉及一项或多项专利。 - 请参见 www.beckman.com/patents

*Navios 已获得 CE 认证，可用于 10 色体外诊断（IVD）。在美国，Navios 预期用作 IVD 器械，使用 Navios tetra 软件以及 CYTO-STAT tetraCHROME CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 和 CYTO-STAT tetraCHROME CD45-FITC/CD56-RD1/CD19-ECD/CD3-PC5 试剂进行免疫分型。所有其他用途仅供研究使用（RUO）。

文中提及的 Immunotech 和 Immunotech 产品标志均是 Immunotech SAS.在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。Immunotech 是 Beckman Coulter 旗下的公司。

Alexa Fluor 647 和 Allophycocyanin Alexa Fluor 750 是 Molecular Probes, Inc.的商标。

欲获得其他信息，或收到破损产品，请通过电子邮箱 duraclone-support@beckman.com 与贝克曼库尔特客户服务部联系，或联系当地贝克曼库尔特代表。

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（PN C05838）。



贝克曼库尔特（印度）有限公司

Plot No 37/1 Hitech/Defence aerospace IT Sector
Mahadevakodigehalli village, Hobli Jala Taluk,
Bangalore North, Bengaluru (Bangalore) Urban,
Karnataka (India) – 562149

印度印刷

© 2021 贝克曼库尔特（美国）股份有限公司
保留所有权利。

【修订历史】

修订版 1.0， 2015 年 8 月

- 初始版本

修订版 2.0， 2021 年 8 月

变更如下：

- 地址
- 涉及的成分浓度
- 试剂盒内容物
- 警告声明
- 储存条件
- 仪器要求
- 标本采集
- 商标

【说明书版本说明】

原文说明书文档版本： B53346-2.0， 原文说明书生效日期： 2021 年 08 月；

中文说明书文档版本： B53346-2.0-CN ， 中文说明书生效时间： 2024 年 4 月；

中文说明书 B53346-2.0-CN 内容直接翻译自原文说明书 B53346-2.0。