



RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail

- REF** 15064HLA 10 mL For labeling 250 mL of whole blood
- REF** 15084HLA 40 mL For labeling 1000 mL of whole blood

ENGLISH

INTENDED USE

RosetteSep™ cell enrichment cocktails are designed for the in vitro enrichment of specific cell subsets from human cell sources, including whole blood.

PRODUCT DESCRIPTION

The RosetteSep™ antibody cocktail crosslinks unwanted cells in human whole blood to multiple red blood cells (RBCs), forming immunorosettes. These dense immunorosettes pellet along with the free RBCs when centrifuged over a density gradient medium such as RosetteSep™ DM-L (Catalog #15705), Lymphoprep™ (Catalog #07801) or Ficoll-Paque™ PLUS. Desired cells are never labeled with antibody and are easily collected as a highly enriched population at the interface between the plasma and the density gradient medium.

RosetteSep™ HLA B Cell Enrichment Cocktail **REF**#15024HC.1

This cocktail contains a combination of mouse and rat monoclonal antibodies. These antibodies are bound in bispecific Tetrameric Antibody Complexes (TACs) which are directed against cell surface antigens on unwanted cells (CD2, CD3, CD16, CD36, CD56, CD66b, CD71) and glycophorin A on RBCs. The mouse monoclonal antibody subclass is IgG₁.

QUALITY CONTROL

RosetteSep™ cell enrichment cocktails are manufactured using aseptic technique and tightly controlled processes.

Each lot of RosetteSep™ cell enrichment cocktail is sterility tested according to USP methods and Quality Control performance tested in cell separation assays using human whole blood.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2 - 8°C. This product may be shipped at 15 - 25°C, but should be refrigerated upon receipt. Do not freeze. Product stable at 2 - 8°C until expiry date (EXP) on label.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. For professional users only.
2. This product is for in vitro diagnostic use.
3. Do not use cocktail if vial contents have leaked. Unused cocktail may be disposed of according to standard laboratory procedures for non-hazardous liquids.
4. This product should be handled by trained personnel observing good laboratory practices. Once this product is added to human cells, treat the suspension as potentially biohazardous. Handling of reagents and disposal of wastes should observe all local, state, or national regulations.
5. This product is a potential irritant to eyes, respiratory system, and skin. This product may also be harmful if ingested. Avoid exposure through skin, eye contact, inhalation, and ingestion.

SPECIAL MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Density Gradient Medium

Density gradient medium refers to RosetteSep™ DM-L (Catalog #15705), Lymphoprep™ (Catalog #07801), Ficoll-Paque™ PLUS, or other similar density gradient media.

Recommended Medium

Phosphate-buffered saline with 2% fetal bovine serum (PBS + 2% FBS, Catalog #07905).

Lymphoprep is a trademark of AXIS-SHIELD, Ficoll-Paque is a trademark of GE Healthcare Limited.



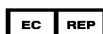
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

HANDLING AND DIRECTIONS FOR USE

Ensure that blood sample, recommended medium, density gradient medium (see Special Materials Required but not Provided), and centrifuge are all at room temperature (15 - 25°C).

- 1. Add RosetteSep™ HLA Cocktail at 40 µL/mL of whole blood* (e.g. for 2 mL of whole blood, add 80 µL of cocktail). Mix well.
- 2. Incubate 20 minutes at room temperature (15 - 25°C).
- 3. Dilute sample with an equal volume of PBS + 2% FBS and mix gently.
- 4. Layer the diluted sample on top of the density gradient medium

OR

Layer the density gradient medium underneath the diluted sample.

Be careful to minimize mixing of the density gradient medium and sample.

See Table 1 for volume recommendations. With 50 mL conical tubes, we suggest using a minimum of 15 mL density gradient medium to make it easier to remove the enriched layer.

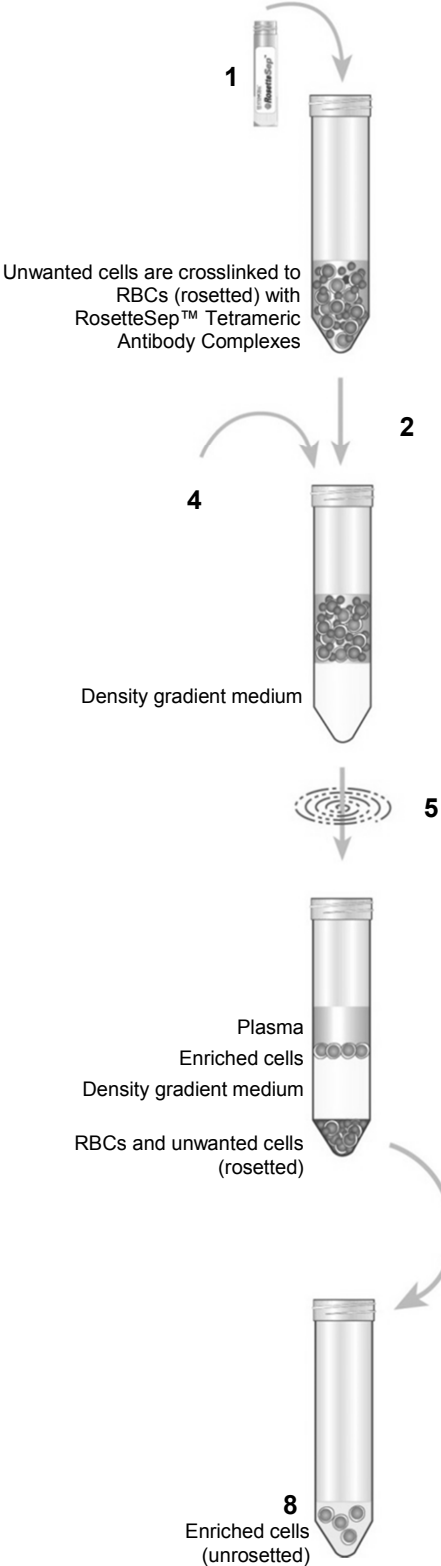
Table 1: Recommended Volumes and Tube Sizes

WHOLE BLOOD (mL)	PBS + 2% FBS (mL)	DENSITY GRADIENT MEDIUM (mL)	TUBE SIZE (mL)
1	1	1.5	5
2	2	3	14
3	3	3	14
4	4	4	14
5	5	15	50
10	10	15	50
15	15	15	50

- 5. Centrifuge for 20 minutes at 1200 x g (see Notes) at room temperature (15 - 25°C), with the brake off.
 - 6. Remove the enriched cells from the density gradient medium : plasma interface.
- Note: Sometimes it is difficult to see the cells at the interface, especially when very rare cells are enriched. It is advisable to remove some of the density gradient medium along with the enriched cells in order to ensure optimal recovery.
- 7. Wash enriched cells with PBS + 2% FBS. Repeat.
 - 8. Use enriched cells as desired. If you wish to evaluate the cell purity by flow cytometry, we recommend lysing enriched samples with ammonium chloride to remove residual RBCs (this can be done as the wash step).

ROSETTESEP™ PROCEDURE

Numbers refer to steps in Handling and Directions for Use.



NOTES

Samples other than Whole Blood

Although RosetteSep™ has been optimized for use with whole blood, cells can be enriched from other sources (e.g. buffy coat, leukapheresis samples). The concentration of nucleated cells in the sample should not exceed 5×10^7 cells/mL, and RBCs should be present at a ratio of at least 30 - 100 RBCs per nucleated cell.

Conversion of g to RPM

To convert g to rpm, use the following formula:

$$\text{RPM} = \sqrt{\frac{\text{RCF}}{(1.118 \times 10^{-5}) \times (\text{Radius})}}$$

Where: RPM = centrifuge speed in revolutions per minute
RCF = relative centrifugal force (g)
Radius = radius of rotor (cm)

Assessing Purity

Purity of B cells can be measured by flow cytometry after staining with a fluorochrome-conjugated anti-CD19 antibody (e.g. Anti-Human CD19, Clone H1B19, Catalog #60005), CD20 antibody (e.g. Anti-Human CD20, Clone 2H7, Catalog #60008) or other B cell marker.

Typical Results

These results are for illustrative purposes only. They were obtained using samples from normal, healthy adults. Results from individual patient samples may vary.

CATALOG #	CELL TYPE ENRICHED	PURITY
15064HLA/15084HLA	B Cells (CD19 ⁺)	> 65%

TECHNICAL ASSISTANCE

For technical support please contact us by email at techsupport@stemcell.com or call either **+1.604.877.0713** or the European Toll-Free number 00800 7836 2355. For more information please visit www.stemcell.com.

If you require a printed copy or a translated version of this document in a certain language please contact technical support.

EC REP MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover, Germany

REF Catalog or reference number	LOT Batch code	 Use by: YYYY-MM
 Caution, consult accompanying documents	IVD In Vitro Diagnostic Medical Device	 For storage within temperature limits
CE CE Mark	 Manufacturers identification (name & address)	EC REP Authorized EC representative in the European Community



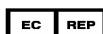
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

FRANÇAIS

RosetteSep™ HLA Cocktail d'Enrichissement en Cellules B

 15064HLA	10 mL	Pour un marquage à 250 mL de sang total
 15084HLA	40 mL	Pour un marquage à 1 000 mL de sang total

UTILISATION CONSEILLÉE

Les cocktails d'enrichissement en cellules RosetteSep™ sont destinés à l'enrichissement *in vitro* de sous-populations de cellules spécifiques tirées de sources cellulaires humaines, dont le sang total.

COMPOSITION

Le cocktail d'anticorps RosetteSep™ permet la liaison des cellules indésirables du sang total humain aux globules rouges (GR), formant ainsi des rosettes. Ces rosettes denses forment un culot avec les GR libres lorsqu'elles sont centrifugées par milieu de gradient de densité tel que RosetteSep™ DM-L (Référence N° 15705), Lymphoprep™ (Référence N° 07801), ou Ficoll-Paque™ PLUS. Les cellules d'intérêt fortement enrichies par cette méthode ne sont jamais marquées par un anticorps et sont facilement collectées à l'interface entre le plasma et le milieu de gradient de densité.

RosetteSep™ HLA Cocktail d'Enrichissement en Cellules B N° : 15024HC.1

Ce cocktail contient une combinaison d'anticorps monoclonaux de souris et de rat. Ces anticorps sont liés de façon à former des complexes anticorps tétramériques (TACs) bispécifiques dirigés contre les antigènes de surface cellulaire des cellules non désirées (CD2, CD3, CD16, CD36, CD56, CD66b, CD71) et la Glycophorine A des GR. Les anticorps monoclonaux de souris utilisés sont de sous type IgG₁.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Les cocktails d'enrichissement en cellules RosetteSep™ sont fabriqués en utilisant des techniques aseptiques au moyen de processus strictement contrôlés.

Chaque lot de cocktail d'enrichissement RosetteSep™ est testé pour la stérilité afin de répondre aux normes USP, ainsi qu'un test de performance d'isolation cellulaire sur sang totale humain et de contrôle qualité.

CONSERVATION ET STABILITÉ

Conservation à 2 - 8°C. Ce produit peut être transporté à 15 - 25°C, mais doit être réfrigéré dès réception. Ne pas congeler. Produit stable à 2 - 8°C jusqu'à sa date d'expiration (EXP), comme indiqué sur l'étiquette.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

1. Réservé aux professionnels.
2. Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.
3. Ne pas utiliser le cocktail en cas de fuite du contenu des flacons. Tout cocktail inutilisé doit être jeté conformément aux procédures de laboratoire standards relatives aux liquides non dangereux.
4. Ce produit doit être manipulé par du personnel qualifié selon les bonnes pratiques de laboratoire. Une fois ce produit ajouté aux cellules humaines, la suspension doit être considérée comme potentiellement un danger biologique. La manipulation des réactifs et l'élimination des déchets doivent respecter l'ensemble de la réglementation locale, étatique ou nationale.
5. Ce produit est potentiellement irritant pour les yeux, le système respiratoire et la peau. Ce produit peut également être dangereux en cas d'ingestion. Éviter toute exposition cutanée, contact avec les yeux, l'inhalation et l'ingestion.

MATERIEL SPECIAL NÉCESSAIRE NON FOURNI

Milieu de gradient de densité

Le milieu de gradient de densité fait référence au RosetteSep™ DM-L (Référence N° 15705), Lymphoprep™ (Référence N° 07801), Ficoll-Paque™ PLUS, ou d'autres milieux de gradient de densité similaire.

Milieu recommandé

Tampon phosphate salin avec 2% de sérum foetal bovin (PBS + 2% FBS, Référence N° 07905).

Lymphoprep est une marque commerciale de AXIS-SHIELD. Ficoll-Paque est une marque commerciale de GE Healthcare Limited.



STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

MANIPULATION ET MODE D'EMPLOI

Vérifier que l'échantillon de sang, le milieu recommandé, le milieu de gradient de densité (cf. Matériel Spécial Nécessaire non Fourni) et la centrifugeuse sont à température ambiante (15 - 25°C).

1. Ajouter le cocktail HLA RosetteSep™ à **40 µL/mL** de sang total* (par ex. : pour 2 mL de sang total, ajouter 80 µL de cocktail). Bien mélanger.

**En cas d'utilisation d'échantillons autres que du sang total frais, se référer aux Notes.*

2. Incuber **20 minutes** à température ambiante (15 - 25°C).
3. Diluer l'échantillon dans un volume identique de PBS + 2% FBS puis mélanger doucement.
4. Disposer l'échantillon dilué au-dessus du milieu de gradient de densité.

OU

Disposer le milieu de gradient de densité sous l'échantillon dilué.

Eviter de mélanger entre le milieu de gradient de densité et l'échantillon.

Se référer au Tableau 1 pour les recommandations de volume. Pour des tubes coniques de 50 mL, nous conseillons d'utiliser au moins 15 mL de milieu de gradient de densité, afin de faciliter la récupération de la fraction enrichie.

Tableau 1 : Volumes Recommandés et Tailles des Tubes

SANG TOTAL (mL)	PBS + 2% FBS (mL)	MILIEU DE GRADIENT DE DENSITE (mL)	TAILLE DU TUBE (mL)
1	1	1,5	5
2	2	3	14
3	3	3	14
4	4	4	14
5	5	15	50
10	10	15	50
15	15	15	50

5. Centrifuger pendant **20 minutes** à 1200 x g (cf. Notes) à température ambiante (15 - 25°C), sans frein.

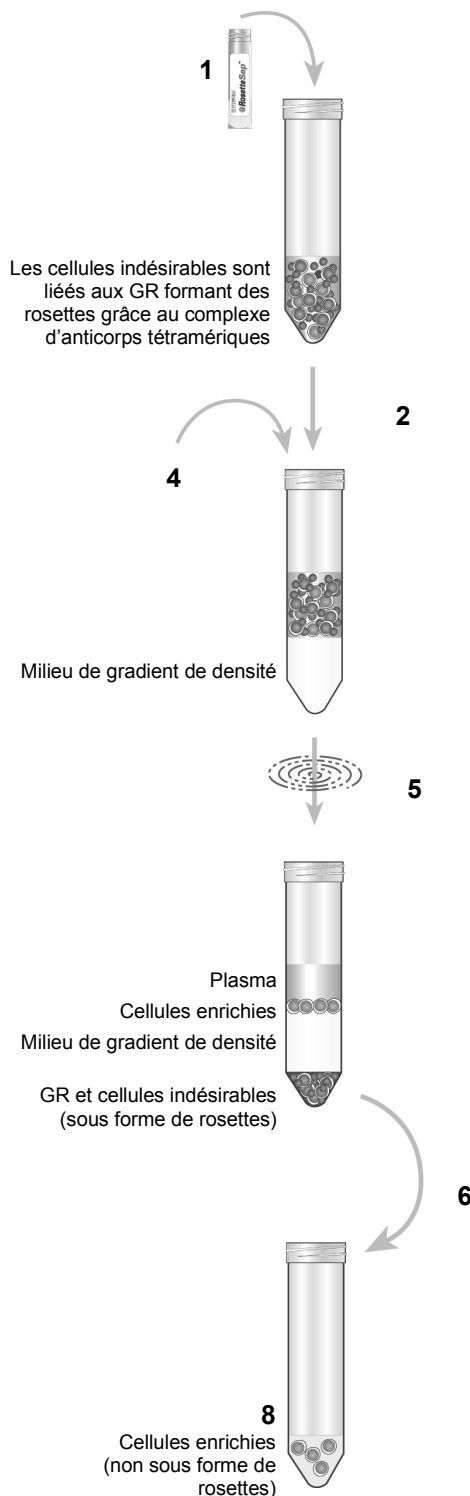
6. Récupérer les cellules enrichies du milieu de gradient de densité à l'interface plasma.

Note : Il est parfois difficile de voir les cellules à l'interface, notamment lorsque l'enrichissement concerne très peu de cellules. Il est recommandé de retirer une partie du milieu de gradient de densité avec les cellules enrichies, afin de garantir une récupération optimum.

7. Laver les cellules enrichies une première fois avec du PBS + 2% FBS. Répéter.
8. Utiliser les cellules enrichies, selon les besoins. Si vous souhaitez effectuer une analyse par cytométrie de flux pour évaluer la pureté des cellules, nous recommandons de lyser les échantillons enrichis avec du chlorure d'ammonium afin d'éliminer les globules rouges résiduels (ceci peut être réalisé durant une étape du lavage).

DIAGRAMME DE PROTOCOLE ROSETTESEP™

Les numéros renvoient aux étapes de la section Manipulation et Mode d'Emploi.



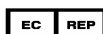
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

NOTES

Échantillons autres que du sang total

Bien que RosetteSep™ ait été optimisé pour une utilisation avec du sang total, les cellules peuvent être enrichies à partir d'autres sources (tel que: la couche leucocyto-plaquettaire, des échantillons de leucaphérèse). La concentration de cellules nucléées dans l'échantillon ne doit pas dépasser 5×10^7 cellules/mL, et les GR doivent être présents à un ratio d'au moins 30 - 100 GR par cellule nucléée.

Conversion de g en tr/min

Pour convertir g en tr/min, utiliser la formule suivante :

$$\text{tr/min} = \sqrt{\frac{\text{FCR}}{(1,118 \times 10^{-5}) \times (\text{Radius})}}$$

Où : tr/min = vitesse centrifuge en tour par minute
FCR = force centrifuge relative (g)
Radius = rayon du moteur (cm)

Contrôle de la pureté

La pureté des cellules B peut être mesurée par cytométrie de flux après marquage à l'aide d'un anticorps anti-CD19 conjugué à un fluorochrome (par ex. : anti-CD19 humain, Clone HIB19, Référence N° 60005), anticorps CD20 (par ex. : anti-CD20 humain, Clone 2H7, Référence N° 60008), ou d'autre marqueur de cellule B.

Résultats typiques

Ces résultats sont uniquement donnés à titre d'illustration. Ils ont été obtenus à l'aide d'échantillons provenant d'adultes normaux en bonne santé. Les résultats peuvent varier d'un échantillon de donneur à un autre.

RÉFÉRENCE N°	TYPE DE CELLULES ENRICHIES	PURETÉ
15064HLA/15084HLA	Cellules B (CD19 ⁺)	> 65%

ASSISTANCE TECHNIQUE

Pour joindre l'assistance technique, veuillez nous contacter par email à l'adresse : techsupport@stemcell.com ou par téléphone au numéro: **+1.604.877.0713**, ou le numéro sans frais européenne: **00800 7836 2355**.

Pour de plus amples informations, veuillez visiter le site: www.stemcell.com.

Si vous avez besoin d'une d'uite en une certaine langue de ce document, veuillez contacter l'assistance technique

EC REP MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover, Germany

REF Référence du catalogue	LOT Numéro de lot	 Utiliser avant: AAAA-MM
 Attention: voir notice d'instructions	IVD Dispositif médical de diagnostic in vitro	 Limites de températures
CE Marquage CE	 Fabriquant (nom et adresse)	EC REP Représentant CE autorisé au sein de la Communauté Européenne



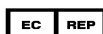
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

ESPAÑOL

RosetteSep™ HLA para Enriquecimiento de Linfocitos B

REF 15064HLA 10 mL Para marcar 250 mL de sangre total

REF 15084HLA 40 mL Para marcar 1000 mL de sangre total

USO PREVISTO

Los cócteles de enriquecimiento celular RosetteSep™ están diseñados para enriquecer in vitro ciertas subpoblaciones celulares de origen humano, incluida la sangre total.

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO

El cóctel de anticuerpos RosetteSep™ entrecruza las células no deseadas en sangre total humana a múltiples eritrocitos formando inmunorosetas. Estas inmunorosetas densas precipitan junto a los eritrocitos libres cuando se centrifugan en un medio de gradiente de densidad como RosetteSep™ DM-L (n.º de catálogo 15705), Lymphoprep™ (n.º de catálogo 07801) o Ficoll-Paque™ PLUS. Las células deseadas no son nunca marcadas con anticuerpos y la población altamente enriquecida puede recogerse de forma sencilla en la intersección entre el plasma y el medio de gradiente de densidad.

RosetteSep™ HLA para Enriquecimiento de **REF** N.º 15024HC.1 Linfocitos B

El cóctel contiene una combinación de anticuerpos monoclonales de ratón y rata. Estos anticuerpos están ligados en complejos de anticuerpos tetraméricos (tetrameric antibody complexes, TACs) biespecíficos, dirigidos contra los antígenos de la superficie celular de células no deseadas (CD2, CD3, CD16, CD36, CD56, CD66b, CD71) y la glicoforina A en eritrocitos. La subclase del anticuerpo monoclonal de ratón es IgG₁.

CONTROL DE CALIDAD

Los cócteles de enriquecimiento celular RosetteSep™ se fabrican mediante técnicas asépticas utilizando procesos estrictamente controlados.

Cada lote de cóctel de enriquecimiento celular RosetteSep™ se somete a pruebas de esterilidad según los métodos USP (farmacopea estadounidense) y de control de calidad con pruebas de rendimiento en ensayos de separación celular con sangre total humana.

CONSERVACIÓN Y LA ESTABILIDAD

Conservar a una temperatura de entre 2 y 8°C. Este producto se puede enviar a temperaturas de entre 15 y 25°C, pero debe refrigerarse en el momento de la recepción. No congelar. El producto permanece estable a una temperatura de entre 2 y 8°C hasta la fecha de caducidad (EXP) indicada en la etiqueta.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Destinado únicamente a usuarios profesionales.
2. Este producto está para uso diagnóstico in vitro.
3. No utilizar el cóctel si se ha producido una fuga del contenido del vial. El cóctel no utilizado se puede desechar de acuerdo a los procedimientos estándar de laboratorio para líquidos no peligrosos.
4. Este producto debe ser manipulado por personal capacitado observando las buenas prácticas de laboratorio. Una vez que se ha añadido el producto a células humanas, la suspensión debe tratarse como peligro biológico potencial. La manipulación de los reactivos y el tratamiento de los residuos deberán realizarse observando toda la normativa local, estatal o nacional.
5. Este producto puede irritar los ojos, el sistema respiratorio y la piel. Este producto también puede ser perjudicial si se ingiere. Evitar la exposición sobre la piel, el contacto con los ojos, la inhalación y la ingesta.

MATERIALES ESPECIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

Medio de gradiente de densidad

Medio de gradiente de densidad se refiere a RosetteSep™ DM-L (n.º de catálogo 15705), Lymphoprep™ (n.º de catálogo 07801), Ficoll-Paque™ PLUS, u otros medios de gradiente de densidad similares.

Medio recomendado

Tampón fosfato salino con 2% de suero fetal bovino (PBS + 2% FBS, n.º de catálogo 07905).

Lymphoprep es una marca comercial de AXIS-SHIELD. Ficoll-Paque es una marca comercial de GE Healthcare Limited.



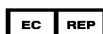
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

MANIPULACIÓN E INSTRUCCIONES DE USO PROCEDIMIENTO ROSETTESEP™

Asegurarse de que la muestra de sangre, el medio recomendado, el medio de gradiente de densidad (consulte el apartado Materiales Especiales Necesarios Pero no Suministrados), y la centrifuga estén a temperatura ambiente (15 - 25°C).

- 1. Añadir cóctel de HLA RosetteSep™ en una proporción de 40 µL/mL de sangre total* (p. ej., para 2 mL de sangre total, añadir 80 µL de cóctel). Mezclar bien.

*En caso de utilizar muestras que no sean sangre total fresca, consulte las Notas.

- 2. Incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente (15 - 25°C).
- 3. Diluir la muestra en un volumen equivalente de PBS + 2% FBS y mezclar con cuidado.
- 4. Añadir una capa de la muestra diluida sobre el medio de gradiente de densidad

○
Añadir una capa de medio de gradiente de densidad bajo la muestra diluida.

Ponga atención para minimizar la posibilidad de que el medio de gradiente de densidad se mezcle con la muestra.

Consulte las recomendaciones de volumen en la Tabla 1. Con tubos cónicos de 50 mL, sugerimos utilizar un mínimo de 15 mL de medio de gradiente de densidad para facilitar la recogida de la capa enriquecida.

Tabla 1: Volúmenes y Tamaños de Tubo Recomendados

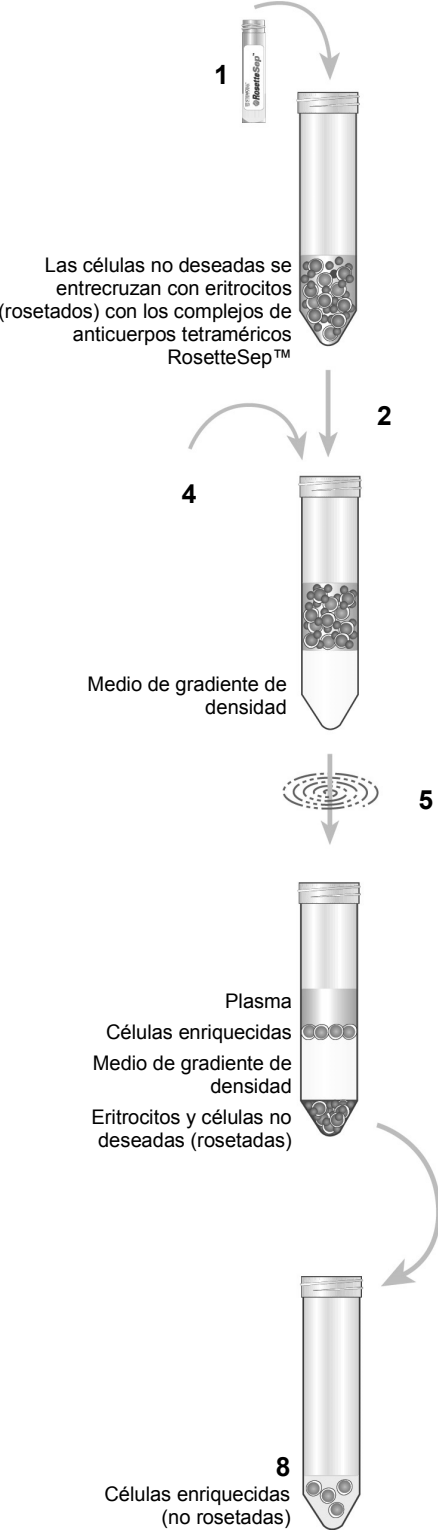
SANGRE TOTAL (mL)	PBS + 2% FBS (mL)	MEDIO DE GRADIENTE DE DENSIDAD (mL)	TAMAÑO DE TUBO (mL)
1	1	1,5	5
2	2	3	14
3	3	3	14
4	4	4	14
5	5	15	50
10	10	15	50
15	15	15	50

- 5. Centrifugar durante 20 minutos a 1200 x g (consulte las “Notas”) a temperatura ambiente (15 - 25°C) y sin freno.
- 6. Retirar las células enriquecidas de la interfase entre el medio de gradiente de densidad y el plasma.

Nota: En algunas ocasiones, es difícil ver las células en la interfase, especialmente cuando se enriquecen células muy poco comunes. Es aconsejable retirar parte del medio de gradiente de densidad junto con las células enriquecidas a fin de asegurar una recuperación óptima.

- 7. Lavar las células enriquecidas con PBS + 2% FBS. Repetir.
- 8. Utilice las células enriquecidas para el uso deseado. Si desea evaluar la pureza celular por citometría de flujo, recomendamos lisar las muestras enriquecidas con cloruro de amonio para eliminar los eritrocitos residuales (esto se puede realizar como el paso de lavado).

Los números hacen referencia a los pasos descritos en Manipulación e Instrucciones de Uso.



NOTAS

Muestras de sustancias que no sean sangre total

Aunque RosetteSep™ se ha optimizado para su uso con sangre total, también pueden enriquecerse células procedentes de otras fuentes (p. ej., muestras de capa leucocitaria, leucaféresis). La concentración de células nucleadas en la muestra no debe ser mayor de 5×10^7 células/mL y la presencia de eritrocitos debe ser en una proporción de al menos 30 a 100 por cada célula nucleada.

Conversión de g a RPM

Para convertir g a rpm, utilice la fórmula siguiente:

$$RPM = \sqrt{\frac{RCF}{(1,118 \times 10^{-5}) \times (\text{Radio})}}$$

Donde: RPM = velocidad de centrifugado en revoluciones por minuto

RCF = fuerza centrífuga relativa (g)

Radio = radio del rotor (cm)

Evaluación de la pureza

Se puede medir la pureza de los linfocitos B por medio de citometría de flujo después de la tinción con un anticuerpo anti-CD19 conjugado con un fluorocromo (p. ej., anti-CD19 humano, Clon HIB19, n.º de catálogo 60005), anticuerpo CD20 (p. ej., anti-CD20 humano, Clon 2H7, n.º de catálogo 60008) u otro marcador de los linfocitos B.

Resultados típicos

Estos resultados se presentan a modo ilustrativo únicamente. Se han obtenido utilizando muestras de individuos adultos normales y sanos. Los resultados de muestras de pacientes pueden variar.

N.º DE CATÁLOGO	TIPO DE CÉLULA ENRIQUECIDA	PUREZA
15064HLA/15084HLA	Linfocitos B (CD19 ⁺)	> 65%

ASISTENCIA TÉCNICA

Si necesita asistencia técnica, envíenos un correo electrónico a techsupport@stemcell.com o llame al **+1.604.877.0713**, o llame al número gratuito Europea **00800 7836 2355**.

Para más información, entre en www.stemcell.com.

Si necesita una copia impresa o una versión de este documento traducido a un determinado idioma, no dude en ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica.

EC REP MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover, Germany

REF Número de catálogo o de referencia	LOT Código de lote	 Usar hasta: AAAA-MM
 Precaución, consultar los documentos adjuntos	IVD Equipo médico para diagnóstico in vitro	 Conservar dentro del rango de temperaturas
CE Marca CE	 Identificación del fabricante (nombre y domicilio)	EC REP Representante autorizado CE para la Comunidad Europea



STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

ITALIANO

RosetteSep™ HLA Cocktail di Arricchimento Cellulare B

 15064HLA	10 mL	Per l'etichettatura di 250 mL di sangue intero
 15084HLA	40 mL	Per l'etichettatura di 1000 mL di sangue intero

UTILIZZO

I cocktail di arricchimento cellulare RosetteSep™ sono destinati all'arricchimento in vitro di sottoinsiemi cellulari specifici da fonti di cellule umane, compreso il sangue intero.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO

Il cocktail di anticorpi RosetteSep™ correla in modo incrociato le cellule indesiderate del sangue umano intero a globuli rossi multipli, così da formare immunorosette. Queste immunorosette dense si granulano con i globuli rossi liberi quando sono centrifugate su un mezzo gradiente di densità, come RosetteSep™ DM-L (Catalogo #15705), Lymphoprep™ (Catalogo #07801), o Ficoll-Paque™ PLUS. Le cellule desiderate non sono mai etichettate con anticorpi e vengono raccolte facilmente come popolazione altamente arricchita all'interfaccia tra il plasma e il mezzo gradiente di densità.

RosetteSep™ HLA Cocktail di Arricchimento N. 15024HC.1 Cellulare B

Questo cocktail contiene una combinazione di anticorpi monoclonali di topo e ratto. Gli anticorpi sono uniti in Complessi di anticorpi tetrameric (TAC) bispecifici i quali vengono diretti contro gli antigeni delle superfici cellulari in cellule indesiderate (CD2, CD3, CD16, CD36, CD56, CD66b, CD71) e glicoforina A su globuli rossi. La sottoclasse di anticorpi monoclonali di topo è IgG₁.

CONTROLLI DI QUALITÀ

I cocktail di arricchimento cellulare RosetteSep™ sono prodotti utilizzando una tecnica asettica e dei processi altamente controllati.

Ogni lotto di cocktail di arricchimento cellulare RosetteSep™ è sottoposto a test sulla sterilità conformi ai metodi USP e a test di rendimento sul controllo qualità in analisi di separazione cellulare in cui viene usato del sangue umano intero.

CONSERVAZIONE E LA STABILITÀ

Conservare a 2 - 8°C. Questo prodotto può essere spedito a 15 - 25°C, ma deve essere messo in frigorifero alla ricezione. Non congelare. Prodotto stabile a 2 - 8°C fino alla data di scadenza (EXP) indicata nell'etichetta.

AVVERTIMENTI E PRECAUZIONI

1. Solo per utilizzatori professionisti.
2. Questo prodotto è da utilizzare per diagnostica in vitro.
3. Non usare il cocktail in caso di perdite dalla fiala. I cocktail inutilizzati possono essere smaltiti in base alle procedure standard di laboratorio relative ai liquidi non pericolosi.
4. Il prodotto deve essere utilizzato da personale qualificato in base alle buone prassi di laboratorio. Una volta aggiunto il prodotto alle cellule umane, trattare la sospensione come potenzialmente biopericolosa. L'utilizzo di reagenti e lo smaltimento di scarti devono essere svolti in conformità alle disposizioni locali, statali o nazionali.
5. Questo prodotto è potenzialmente irritante per gli occhi, il sistema respiratorio e la pelle. Può inoltre essere dannoso se ingerito. Evitare l'esposizione alla pelle, il contatto con gli occhi, l'inalazione e l'ingestione.

MATERIALI SPECIALI RICHIESTI MA NON FORNITI

Mezzo gradiente di densità

Il mezzo gradiente di densità si riferisce a RosetteSep™ DM-L (Catalogo #15705), Lymphoprep™ (Catalogo #07801), Ficoll-Paque™ PLUS, o altri mezzi gradiente di densità simili.

Mezzo consigliato

Salina tamponata al fosfato con siero di bovino totale al 2% (PBS + 2% FBS, Catalogo #07905).

Lymphoprep è un marchio di fabbrica di AXIS-SHIELD. Ficoll-Paque è un marchio di fabbrica di GE Healthcare Limited.



STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

INDICAZIONI DI UTILIZZO

Accertarsi che il campione di sangue, il mezzo consigliato, il mezzo gradiente di densità (cfr. Materiali Speciali Richiesti ma non Forniti) e la centrifuga siano a temperatura ambiente (15 - 25°C).

1. Aggiungere il cocktail RosetteSep™ HLA a **40 µL/mL** di sangue intero* (ad es. per 2 mL di sangue intero, aggiungere 80 µL di cocktail). Mescolare bene.

**Se si utilizzano campioni diversi dal sangue intero fresco, consultare le Note.*

2. Incubare per **20 minuti** a temperatura ambiente (15 - 25°C).
3. Diluire il campione con un volume uguale di PBS + 2% FBS e mescolare delicatamente.
4. Sistemare il campione diluito sopra il mezzo gradiente di densità

O

Sistemare il mezzo gradiente di densità sotto il campione diluito.

Fare attenzione a minimizzare la mescolatura del mezzo gradiente di densità e del campione.

Cfr. Tabella 1 per le raccomandazioni sui volumi. Con i tubi conici da 50 mL, suggeriamo di utilizzare un minimo di 15 mL di mezzo gradiente di densità, onde facilitare la rimozione dello strato arricchito dopo la centrifuga.

Tabella 1: Volumi Consigliati e Dimensioni dei Tubi

SANGUE INTERO (mL)	PBS + 2% FBS (mL)	MEZZO GRADIENTE DI DENSITÀ (mL)	DIMENSIONI TUBO (mL)
1	1	1,5	5
2	2	3	14
3	3	3	14
4	4	4	14
5	5	15	50
10	10	15	50
15	15	15	50

5. Centrifugare per **20 minuti** a 1200 x g (cfr. Note) a temperatura ambiente (15 - 25°C) con il freno disattivato.

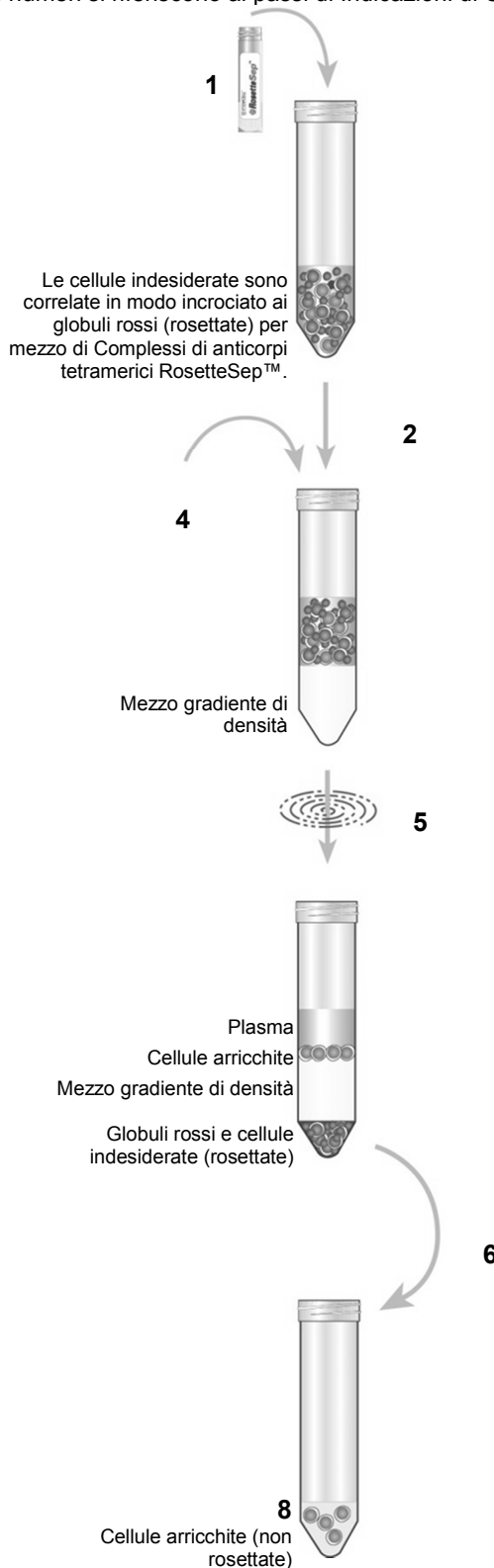
6. Togliere le cellule arricchite dal mezzo gradiente di densità : interfaccia plasma.

Nota: Talvolta è difficile vedere le cellule nell'interfaccia, in particolare quando si arricchiscono cellule molto rare. Si consiglia di rimuovere parte del mezzo gradiente di densità insieme alle cellule arricchite onde assicurare una ripresa ottimale.

7. Lavare le cellule arricchite con PBS + 2% FBS. Ripetere.
8. Utilizzare le cellule arricchite, se lo si desidera. Se desidera valutare la purezza delle cellule con la citometria a flusso, consigliamo di lisare i campioni arricchiti con cloruro di ammonio onde rimuovere i globuli rossi residui (questa operazione può essere effettuata durante il lavaggio).

PROCEDURA ROSETTESEP™

I numeri si riferiscono ai passi di Indicazioni di Utilizzo.



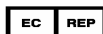
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

NOTE

Campioni diversi dal sangue intero

Anche se RosetteSep™ è ottimizzato per l'uso con il sangue intero, è possibile arricchire le cellule da altre fonti (come crosta, campioni di leucaferesi). La concentrazione di cellule nucleate nel campione non deve superare 5×10^7 cellule/mL, e i globuli rossi devono essere presenti nel rapporto di almeno 30 - 100 globuli rossi per cellula nucleata.

Conversione di g in RPM

Per convertire g in rpm, usare la seguente formula:

$$RPM = \sqrt{\frac{RCF}{(1,118 \times 10^{-5}) \times (\text{raggio})}}$$

In cui: RPM = velocità centrifuga in giri al minuto
RCF = forza centrifuga relativa (g)
Raggio = raggio del rotore (cm)

Valutazione della purezza

È possibile misurare la purezza delle cellule B tramite la citometria a flusso dopo aver macchiato con un anticorpo anti-CD19 coniugato con fluorocromo (ad es. CD19 anti-umano, Clone HIB19, Catalogo #60005), anticorpo CD20 (ad es. CD20 anti-umano, Clone 2H7, Catalogo #60008) o altri marcatori delle cellule B.

Risultati tipici

I seguenti risultati sono a scopo puramente illustrativo. Sono stati ottenuti utilizzando campioni di adulti normali sani. I risultati relativi ai singoli campioni di pazienti possono variare.

CATALOGO #	TIPO DI CELLULA ARRICCHITA	PUREZZA
15064HLA/15084HLA	Cellule B (CD19 ⁺)	> 65%

ASSISTENZA TECNICA

Per assistenza tecnica, contattarci per e-mail all'indirizzo techsupport@stemcell.com o telefonare al numero **+1.604.877.0713**, o al numero verde europeo **00800 7836 2355**. Per ulteriori informazioni visitare www.stemcell.com.

Se avete bisogno di una copia stampata oppure di una versione tradotta di questo documento in una certa lingua contattate il supporto tecnico.

EC REP MDSS GmbH

Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany

REF Numero di catalogo o di riferimento	LOT Lotto	 Usare prima: AAAA-MM
 Attenzione, consultare i documenti allegati	IVD Dispositivo medico-diagnostico in vitro	 Conservare entro il limiti di temperatura
CE Marchio CE	 ID del produttore (nome e indirizzo)	EC REP Rappresentante autorizzato EC dalla Comunità Europea



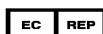
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

DEUTSCH

RosetteSep™ HLA Cocktail zur Anreicherung von B-Zellen

REF 15064HLA 10 mL Zur Markierung von 250 mL Vollblut

REF 15084HLA 40 mL Zur Markierung von 1000 mL Vollblut

INTENDIERTE ANWENDUNG

RosetteSep™ Cocktails zur Zellanreicherung wurden zur *in-vitro*-Anreicherung spezifischer Zell-Populationen aus humanen erythrocytenhaltigen Probenmaterial, einschließlich Vollblut, hergestellt.

PRODUKTBESCHREIBUNG

Der RosetteSep™ Antikörper-Cocktail quervernetzt unerwünschte Zellen und rote Blutkörperchen (RBK) im humanen Vollblut und bildet so Immunrosetten. Diese dichten Immunrosetten bilden zusammen mit den freien RBK Kügelchen, wenn sie in einem Dichtegradienten-Medium wie RosetteSep™ DM-L (Katalognr. 15705), Lymphoprep™ (Katalognr. 07801) oder Ficoll-Paque™ PLUS zentrifugiert werden. Die unmarkierten Zielzellen finden sich als hoch angereicherte Population in der Interphase zwischen Plasma und Dichtegradienten-Medium.

RosetteSep™ HLA Cocktail zur Anreicherung von B-Zellen

REF Nr.15024HC.1

Dieser Cocktail enthält eine Mischung monoklonaler Antikörper aus Maus und Ratte. Die Antikörper sind in bi-spezifischen tetramerschen Antikörperkomplexen (TACs) gebunden, die gegen Zelloberflächenantigene auf unerwünschte Zellen (CD2, CD3, CD16, CD36, CD56, CD66b, CD71) und Glykophorin A auf roten Blutkörperchen gerichtet sind. Die Unterklasse der monoklonalen Mausantikörper sind IgG₁.

QUALITÄTSKONTROLLE

RosetteSep™ Cocktails zur Zellanreicherung werden unter aseptischen Bedingungen und mittels streng kontrollierter Verfahren hergestellt.

Jede Charge RosetteSep™ Cocktails zur Zellanreicherung wird gemäß USP-Verfahrensweisen auf Sterilität getestet und Qualitätskontrollen mit humanem Vollblut in Zelltrennungsanalysen durchgeführt.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Lagerung bei 2 - 8°C. Das Produkt kann bei einer Temperatur von 15 - 25°C transportiert werden, muss aber nach Erhalt gekühlt gelagert werden. Nicht einfrieren. Produktstabilität bei 2 - 8°C bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum (EXP).

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Nur für die professionelle Anwendung.
2. Dieses Produkt ist Zur Verwendung als In-vitro-Diagnostikum.
3. Cocktail nicht verwenden, wenn eine Beschädigung der Umverpackung vorliegt. Nichtverwendete Cocktails können gemäß den gängigen Laborverfahren für nicht gefährliche Flüssigkeiten entsorgt werden.
4. Die Handhabung dieses Produkts ist nur ausgebildetem Personal gestattet, das die Normen der guten Laborpraxis einhält. Wenn das Produkt humanen Zellen beigegeben wurde, ist die Suspension als potentiell biologisch gefährlich zu behandeln. Bei der Handhabung der Reagenzien und der Entsorgung von Abfallstoffen sind sämtliche regionalen oder nationalen Richtlinien einzuhalten.
5. Dieses Produkt kann Reizungen der Augen, des Atemsystems und der Haut verursachen. Das Produkt kann beim Verschlucken schädlich sein. Der Kontakt durch die Haut, Augenkontakt, Einatmung und orale Aufnahme sollten vermieden werden.

NOTWENDIGE, ABER NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE SONDERMATERIALIEN

Dichtegradienten-Medium

Dichtegradienten-Medium bezieht sich auf RosetteSep™ DM-L (Katalognr. 15705), Lymphoprep™ (Katalognr. 07801), Ficoll-Paque™ PLUS oder ähnliche Dichtegradienten-Medien.

Empfohlenes Medium

Phosphat-Kochsalzlösung mit 2% fetalem Rinderserum (PBS + 2% FBS, Katalognr. 07905).

Lymphoprep ist eine Marke der AXIS-SHIELD. Ficoll-Paque ist eine Marke der GE Healthcare Limited.



STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

HANDHABUNG UND ANWENDUNGSHINWEISE

Stellen Sie sicher, dass die Blutprobe, das empfohlene Medium, das Dichtegradienten-Medium (siehe Notwendige, aber nicht im Lieferumfang enthaltene Sondermaterialien) und die Zentrifuge Zimmertemperatur (15 - 25°C) haben.

1. RosetteSep™ HLA Cocktail zu **40 µL/mL** Vollblut* hinzugeben (z.B. bei 2 mL Vollblut 80 µL Cocktail hinzugeben). Gut mischen.

**Falls keine Vollblut-Proben verwendet werden, lesen Sie bitte den Abschnitt Anmerkungen.*

2. **20 Minuten** bei Zimmertemperatur (15 - 25°C) inkubieren.
3. Probe mit einem gleichen Volumen von PBS mit 2% FBS verdünnen und vorsichtig mischen.
4. Die verdünnte Probe auf dem Dichtegradienten-Medium aufschichten
ODER

Das Dichtegradienten-Medium unter die verdünnte Probe schichten.

Vermeiden Sie dabei die Vermischung von Dichtegradienten-Medium und Probe.

Empfohlene Volumina siehe Tabelle 1. Bei der Verwendung von konischen 50-mL-Röhrchen empfehlen wir mindestens 15 mL Dichtegradienten-Medium, um das Abnehmen der angereicherten Zellen zu vereinfachen.

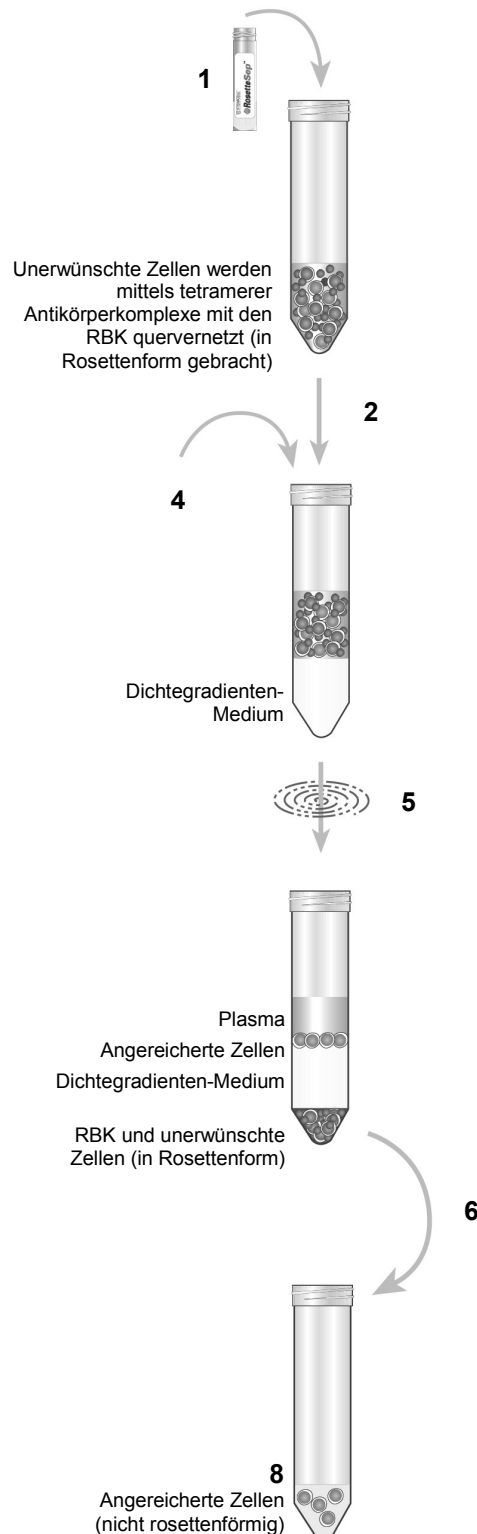
Tabelle 1: Empfohlene Volumina und Röhrchengrößen

VOLLBLUT (mL)	PBS + 2% FBS (mL)	DICHTEGRADIENTEN-MEDIUM (mL)	RÖHRCHEN-GRÖSSE (mL)
1	1	1,5	5
2	2	3	14
3	3	3	14
4	4	4	14
5	5	15	50
10	10	15	50
15	15	15	50

5. **20 Minuten** bei 1200 x g (siehe Anmerkungen) bei Zimmertemperatur (15 - 25°C) ohne Bremse zentrifugieren.
6. Zielzellen vom Dichtegradienten-Medium entfernen : Interphase.
Anmerkung: Mitunter ist es schwierig, die Zellen in der Interphase zu erkennen, besonders wenn sehr seltene Zellen angereichert werden. Es empfiehlt sich, die Interphase großzügig (mit einem Teil des Dichtegradienten-Mediums) aufzunehmen, um eine optimale Gewinnung zu gewährleisten.
7. Angereicherte Zellen mit PBS + 2% FBS waschen. Wiederholen.
8. Angereicherte Zellen wie gewünscht verwenden. Wenn Sie die Zellreinheit mittels einer Durchflusszytometrie bewerten möchten, empfehlen wir, die angereicherten Proben mit Salmiak zu lysieren, um Rückstände von RBK zu entfernen (dies kann während des Waschvorgangs erfolgen).

ROSETTESEP™-VERFAHREN

Die Zahlen beziehen sich auf die unter Handhabung und Anwendungshinweise angegebenen Schritte



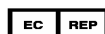
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015

ANMERKUNGEN

Alternative Proben zu Vollblut

Obwohl RosetteSep™ für die Verwendung mit Vollblut optimiert wurde, können Zellen auch aus anderen erythrocytenhaltigen Probenmaterialien angereichert werden (z.B. Buffy-Coat, Leukapheres-Proben). Die Konzentration der kernhaltigen Zellen in der Probe sollte 5×10^7 Zellen/mL nicht überschreiten. RBK sollten mindestens im Verhältnis von 30 - 100 RBK pro kernhaltige Zelle vorliegen.

Umwandlung von g zu UpM (Drehzahl)

Zur Umwandlung von g in UpM, bitte folgende Formel verwenden:

$$\text{UpM} = \sqrt{\frac{\text{RZB}}{(1,118 \times 10^{-5}) \times (\text{Radius})}}$$

Wobei: UpM = Umdrehung pro Minute
RZB = Relative Zentrifugalbeschleunigung (g)
Radius = Rotorradius (cm)

Reinheitsanalyse

Die Reinheit der B-Zellen kann mittels Durchflusszytometrie nach der Einfärbung mit einem fluorochromkonjugierten anti-CD19-Antikörper gemessen werden (z. B. Anti-Human-CD19, Klon HIB19, Katalognr. 60005), Antikörper CD20 (z. B. Anti-Human-CD20, Klon 2H7, Katalognr. 60008) oder anderen B-Zell-marker.

Typische Ergebnisse

Diese Ergebnisse dienen ausschließlich Anschauungszwecken. Sie wurden aus Proben normaler, gesunder Erwachsener gewonnen. Die Ergebnisse individueller Patientenproben können voneinander abweichen.

KATALOGNR.	ANGEREICHERTER ZELLTYP	REINHEIT
15064HLA/15084HLA	B-Zellen (CD19 ⁺)	> 65%

TECHNISCHE UNTERSTÜTZUNG

Weitere technische Unterstützung erhalten Sie, indem Sie eine E-Mail an techsupport@stemcell.com senden, oder telefonisch unter **+1.604.877.0713**, oder der Europäischen gebührenfreie Telefonnummer **00800 7836 2355**.

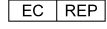
Weitere Informationen finden Sie unter www.stemcell.com.

Wenn Sie ein gedrucktes Exemplar oder eine übersetzte Version dieses Dokuments in einer bestimmten Sprache benötigen, wenden Sie sich bitte an die technische Unterstützung.

EC REP MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover, Germany

 Katalog oder Referenznummer	 Lotnummer	 Verbrauch bis: JJJJ-MM
 Vorsicht, beiliegende Dokumentation beachten	 In Vitro Diagnostisches Medizinprodukt	 Für Lagerung innerhalb der Temperaturgrenzen
 CE Zeichen	 Hersteller Identifikation (Name & Adresse)	 Autorisierter Händler innerhalb der EU



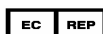
STEMCELL Technologies Inc | 1618 Station Street, Vancouver, BC | V6A 1B6 | Canada | www.stemcell.com

For Technical Assistance

Tel: +1.604.877.0713

European Toll-Free Number: 00800 7836 2355

e-mail: techsupport@stemcell.com



MDSS GmbH

Schiffgraben 41

30175 Hannover • Germany



Document #29671

Version 2.2.1

2015