

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

REF **CD103** FITC **CD19** R-PE IQP-268FR IVD  50 tests

IVD  **Dispositivo medico-diagnostico in vitro**



Descrizione

CD103 Clone **B-ly7** Isotipo **murino IgG1**

Per una descrizione dettagliata di questo particolare singolo reagent, far riferimento a IQP-111, CD103 (B-ly7).

CD19 Clone **HD37** Isotipo **murino IgG1**

Per una descrizione dettagliata di questo particolare singolo reagent, far riferimento a IQP-515, CD19 (HD37).

Finalità La doppia combinazione CD103/CD19, IQP-268FR, è un reagente per immunofluorescenza diretta utilizzato per la determinazione e l'approfondimento delle malignità delle cellule B. La specificità del B-ly7 per la diagnosi di HCL può essere enfatizzato utilizzando i protocolli a doppio colore con i marcatori delle cellule B quali CD19.

Sommario HCL è un disordine raro e le cellule HCL potrebbero essere presenti come infiltrate del midollo osseo o come cellule leucemiche circolanti nel sangue. La aE integrina sembra essere espresso specialmente sulle cellule T e B attivate, e sui monociti attivati, che normalmente comprendono una piccola percentuale di leucociti del sangue. B-ly7 è un marker che si applica di protocollo per la determinazione e l'approfondimento delle malignità delle cellule B. La specificità del B-ly7 per le diagnosi di HCL può essere rafforzata dai protocolli di doppia colorazione con marcatori per le cellule B quali CD19 o CD22.

Applicazioni B-ly7 riconosce un'integrina contenente la subunità aE che dimerizza con la catena b7, presente nella Leucemia a Cellule Capellute, per formare l'antigene HML-1 (human mucosal lymphocyte). L'anticorpo monoclonale B-ly7 (CD103) è fortemente reattivo con la Leucemia a Cellule Capellute (HCL), un sottotipo di Leucemia Linfocitica Cronica di cellule B, ma non con altre Leucemie o Linfomi a cellule B. B-ly7 è frequentemente utilizzato per la diagnosi di HCL insieme con CD19. CD103 è espresso principalmente sui linfociti intra epiteliale e sull' 1-2% dei linfociti del sangue periferico. La sua espressione può essere regolata da linfociti mitogeni, quali esteri del forbolo. La funzione di questa integrina è correlata all'interazione delle cellule T con l'epitelio e alle cellule T d'adesione.

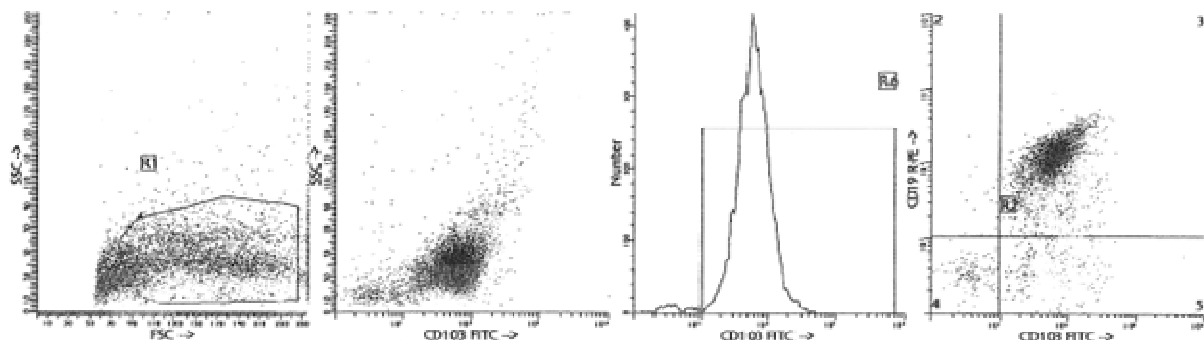
Gli anticorpi monoclonali che hanno cluster CD19 (MW = 95kDa) evidenziano tutte le cellule B del sangue periferico. In aggiunta, CD19 è espresso sui precursori delle cellule B durante la maturazione, ma non sulle plasma cellule mature. CD19 potrebbe anche essere espresso sulle cellule follicolari dendritiche. Esso non è espresso sui linfociti T, sui Granulociti, sulle cellule T attivate o monociti. La funzione della molecola CD19 è correlate al segnale di transfer ed è coinvolta nella regolazione della proliferazione delle cellule B. CD19 è considerato il marcatore caratteristico delle cellule B e quindi comunemente utilizzato nella routine dell'immunofenotipo. Inoltre, CD19 è presente sulle cellule delle Leucemie acute e croniche B e linfomi.

Nota: Non tutte le applicazioni menzionate sono state fatte utilizzando reagenti IQ Products.

Utilizzo Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazioni di immunofluorescenza diretta di tessuti umani per analisi di citometria a flusso utilizzando 10 µl/10⁶ leucociti per singola marcatura e 20 µl/10⁶ leucociti in caso di doppie e triple combinazioni. Se le applicazioni variassero, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere risultati ottimali.

Dati rappresentativi

Sono illustrate analisi di citometria a flusso di cellule HCL di milza colorando con il clone B-ly7 (CD103) / HD37 (CD19) gli anticorpi monoclonali monoclonali. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 20 µl del reagente a doppia colorazione e 100 µl di sospensione cellulare.



Riproducibilità

Gli anticorpi monoclonali sono stati testati da IQProducts in citometria a flusso utilizzando IQ Lyse (IQP-199). È stata utilizzata la metodica 'lyse-wash' su sangue intero da donatore sano. I dati ottenuti supportano la premessa che questi reagenti sono equivalenti nella loro reattività con linfociti di sangue periferico. I valori sono espressi in termini di % della conta totale dei linfociti (vedi tabella).

Reagente	N	Mean % positive	S.D.	%CV
CD103 FITC	10	96.59	0.26	0.27
CD19 R-PE	10	14.74	4.07	29.63

Limitazioni

1. I coniugati con fluorocromi più brillanti quali PE e APC, presenteranno una maggiore separazione rispetto ai coniugati con i fluorocromi quali FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, il calcolo della percentuale delle cellule positive per un determinato marcatore può essere influenzato dalla scelta del fluorocromo.
2. L'utilizzo di anticorpi monoclonali nel trattamento di pazienti può interferire con il riconoscimento degli antigeni bersaglio da parte di questo reagente. Questo dovrebbe essere preso in considerazione quando i campioni analizzati sono di pazienti trattati in questo modo. IQ Products non ha verificato l'effetto della presenza di anticorpi terapeutici sul funzionamento di questo reagente.
3. I reagenti possono essere utilizzati in diverse combinazioni; pertanto, gli operatori di laboratorio dovranno acquistare familiarità con le caratteristiche di ciascun anticorpo in relazione ai marcatori combinati in campioni normali e anormali.
4. I dati relativi all'attività del reagente si basano su sangue trattato con EDTA. L'attività del reagente può essere influenzata se vengono utilizzati altri anticoagulanti.

Reagenti e materiali necessari ma non in dotazione

- 1 Citometro a flusso
- 2 Provetta da test con tappo in polistirene monouso 12 x 75 mm per citometro a flusso
- 3 Micropipetta con puntali monouso
- 4 Miscelatore a vortice
- 5 Centrifuga
- 6 IQ Lyse – soluzione lisante di eritrociti (IQP-199)
- 7 IQ Starfiqs – soluzione permeabilizzante e fissante (IQP-200)
- 8 PBS (soluzione salina di tampone fosfato)
- 9 1% di soluzione paraformaldeide in PBS (conservare a 2-8 °C in vetro ambrato per un massimo di 1 settimana)

Colorazione immunofluorescente e protocollo di lisi

- A - Metodo di citometria a flusso per l'uso con anticorpi monoclonali purificati

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero circa 10^6 leucociti) ad un provetta di reagente da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 10 µl di anticorpo monoclonale purificato*. Agitare la provetta con il Vortex per garantire un'accurata miscelazione di anticorpo e cellule.
3. Incubare la provetta al buio per 15 minuti a temperatura ambiente.
4. Lavare le cellule individuate aggiungendo 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) di eparina, sottoporre a Vortex e centrifugare per 2 min a 1000 x g. ed eliminare il surnatante.
5. Aggiungere alla provetta 50 µl di diluizione 1:10 di IQ Products F(ab)₂ Rabbit Anti Mouse IgG coniugato con fluorocromo, [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] in PBS contenente 0.001% (v/v) di eparina. Si raccomanda di proteggere la provetta dalla luce.
6. Mescolare con il Vortex e incubare al buio per 15 minuti a temperatura ambiente.
7. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto per l'uso) e mescolare immediatamente.
8. Incubare al buio per 10 minuti a temperatura ambiente.
9. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare al buio per 10 minuti.
10. Centrifugare la sospensione di cellule per 2 minuti a 1000 x g.
11. Rimuovere il surnatante e sospendere nuovamente le cellule in 200 µl di PBS.**
12. Analizzare tramite citometria a flusso entro quattro ore (in alternativa le cellule possono essere fissate tramite 0.05% di formalina in soluzione salina tamponata per analisi da eseguire il giorno successivo. Alcuni antigeni sono distrutti immediatamente al momento della fissazione e cio' dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

- B - Metodo di citometria a flusso per anticorpi monoclonali coniugati (FITC, R-PE, CyQ o APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero circa 10^6 leucociti) ad un provetta di reagente da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 10 µl di anticorpo monoclonale purificato*. Agitare la provetta con il Vortex per garantire un'accurata miscelazione di anticorpo e cellule.
3. Incubare la provetta al buio per 15 minuti a temperatura ambiente.
4. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto per l'uso) e mescolare immediatamente.
5. Incubare al buio per 10 minuti a temperatura ambiente.
6. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare al buio per 10 minuti.
7. Centrifugare la sospensione di cellule per 2 minuti a 1000 x g.
8. Rimuovere il surnatante e sospendere nuovamente le cellule in 200 µl di PBS.**
9. Analizzare tramite citometria a flusso entro quattro ore (in alternativa le cellule possono essere fissate tramite 0.05% di formalina in soluzione salina tamponata per analisi da eseguire il giorno successivo. Alcuni antigeni sono distrutti immediatamente al momento della fissazione e cio' dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

- C - Metodo di citometria a flusso per l'uso con combinazioni doppie e triple

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero circa 10^6 leucociti) ad un provetta di reagente da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
Per combinazioni di Ig antikappa e/o antilambda vedi nota applicativa sottostante.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 10 µl di anticorpo monoclonale purificato*.
3. Agitare la provetta con il Vortex per garantire un'accurata miscelazione di anticorpo e cellule.
4. Incubare la provetta al buio per 15 minuti a temperatura ambiente.
5. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto per l'uso) e mescolare immediatamente.
6. Incubare al buio per 10 minuti a temperatura ambiente.
7. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare al buio per 10 minuti.
8. Centrifugare la sospensione di cellule per 2 minuti a 1000 x g.
9. Rimuovere il surnatante e sospendere nuovamente le cellule in 200 µl di PBS.**
10. Analizzare tramite citometria a flusso entro quattro ore (in alternativa le cellule possono essere fissate tramite 0.05% di formalina in soluzione salina tamponata per analisi da eseguire il giorno successivo. Alcuni antigeni sono distrutti immediatamente al momento della fissazione e cio' dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

*A campioni di controllo di isotipo Ig di topo saranno sempre inclusi in qualsiasi studio di identificazione

** PBS: soluzione salina di tampone fosfato, pH 7.2

Nota applicativa per combinazioni di Ig antikappa e/o antilambda

Aggiungere 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) di eparina (preriscaldata a **37 °C**) alla sospensione cellulare.

Agitare con Vortex, centrifugare (2 min a 300x g) e rimuovere il surnatante

Ripetere il passaggio 2 volte

Risospingere le cellule ematiche risultanti in 100 µl di PBS contenente 0.001% (v/v) di eparina



Manipolazione e conservazione

Gli anticorpi sono forniti come fiala per 100 test (1 ml) per combinazioni singole o fiala per 50 test (1 ml) per combinazioni doppie o triple. Sono forniti in 0.01 M fosfato di sodio, 0.15 M NaCl; pH 7.3, 0.2% BSA, 0.9% sodio azide (NaN₃). Conservare le fiale a 2-8 °C. Gli anticorpi monoclonali dovranno essere protetti dall'esposizione prolungata alla luce. I reagenti sono stabili per il periodo indicato sull'etichetta della fiala, se conservati correttamente.

Garanzia

La sola garanzia offerta è di conformità a quantità e contenuti indicati sull'etichetta al momento della fornitura al cliente. Non vengono concessi altri tipi di garanzia, espressi o impliciti, che esulino dalla descrizione riportata sull'etichetta del prodotto. IQ Products non sarà responsabile di danni alla proprietà, ferite personali o perdite economiche causate dal prodotto.

Caratterizzazione

Per garantire un livello qualitativo costantemente elevato, ciascun lotto di anticorpi monoclonali è testato circa la conformità con le caratteristiche di un reagente standard. Dati rappresentativi relativi alla citometria a flusso sono inclusi nella presente scheda.

Attenzione Tutti i prodotti contengono sodio azide, sostanza chimica velenosa e pericolosa. L'uso sarà consentito esclusivamente a operatori specializzati.

Riferimenti bibliografici

1. Poppema, S. and Visser, L., 1990. Blood, 75: 320-321
2. Visser, L. and Poppema, S., 1990. Br. J. Haematol., 75: 359-365
3. Mulligan, S.P. et al., 1990. Blood, 76: 959-964
4. Visser, L. et al. 1992. Hematol. Pathol., 6: 37-42
5. Micklem, K.J. et al.. 1991. American Journal of Pathology, 139: 1297-130
6. Poppema, S. and Visser, L., 1987, Biotest Bulletin, 3: 131-139
7. Visser, L. et al.. 1989. Blood, 74: 320-325
8. Poppema, S. et al., 1989, 132-134, Leucocyte Typing IV, Knapp, W., ed., Oxford University Press
9. Juliusson, G. et al.. 1994. Blood, 83: 3672-3681
10. Robbins, B.A. et al., 1993. Blood, 82: 1277-1287
11. Pinto, A. et al. 1994. A comprehensive review based on the 5th International Workshop on Leucocyte differentiation antigens. Boston, USA, 3-7 November, 1993., 8: 347-358

Legenda dei simboli



REF

Consultare le Istruzioni per l'uso



Numero di catalogo

IVD

Sufficiente per



Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Attenzione, consultare il documento allegato



Conservare al riparo dalla luce (solare)



Rischio biologico



Limiti di temperatura (°C)

RUO

Ad esclusivo uso di ricerca

LOT

Codice del lotto



Utilizzare entro aaaa-mm-gg



Fabbricante

EC REP

Mandatario nella Comunità Europea



Conformité Européenne (Conformità Europea)

P

PURE

Etichetta - tandem
Materiale purificato

Ex -max (nm)

Em -max (nm)

F

FITC

FITC

488

519

R

R-PE

PE

488, 532

578

C

CyQ

PE-Cy5.18

488, 532

667

A

APC

595, 633, 635, 647

660

PC

PerCP

488, 532

678

PCC

PerCP-Cy5.5

488, 532

695



IQ Products BV
Rozenburglaan 13a
9727 DL Groningen, The Netherlands



+31 (0)50 57 57 000



+31 (0)50 57 57 002



Technical marketing@iqproducts.nl



Orders orders@iqproducts.nl



www.iqproducts.nl

