

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD56

PURE	RUO	REF	IQP-114P	▽	100 tests
R-PE	IVD	REF	IQP-114R	▽	100 tests



Dispositivo medico-diagnostico in vitro
Da usare esclusivamente nella ricerca



Descrizione

Clone MOC-1

Isotipo Murino IgG1

Specificità MOC-1 identifica una isoforma, di circa 145 kDa, della molecola delle cellule neuronali d'adesione (NCAM) espressa sulle cellule natural killer (NK).

Distribuzione dell'antigene

Le cellule NK costituiscono approssimativamente il 10% - 25% dei linfociti del sangue periferico. In aggiunta, NCAM è espressa su una varietà di tessuti neuronali e su alcuni tumori di origine neuro-endocrina, quali il cancro del polmone a piccole cellule (SCLC). L'antigene del CD56 non è espresso su altre cellule del sistema immunitario.

Riepilogo

Le cellule NK formano una distinta sottopopolazione dei linfociti, che sono capaci di esprimere la loro attività citotossica senza la restrizione dell' MHC. Le cellule bersaglio potrebbero includere cellule infettate viralmente o cellule trasformate e il CD56 sembra essere coinvolto nell'attività citotossica delle cellule NK. Certi sottotipi di linfoma a cellule T potrebbero esprimere l'antigene del CD56. Queste includono cellule periferiche di linfoma T (NK cell lymphoma: CD56+, EBV+) e linfoma linfocitico T (CD56+/-).

Applicazioni

CD56 (MOC-1) può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue ed in immunocitochimica utilizzando sezioni di tessuto congelato e aspirati di midollo osseo. CD56 è utilizzato in citometria a flusso per la determinazione delle cellule NK per il monitoraggio immunitario. In aggiunta la controparte neoplastica delle cellule NK può essere caratterizzata come linfocitosi T gamma, mostrando l'espressione di un numero di antigeni quali: CD56+, CD7+, CD16+, CD2+/- e CD8+/- . La coespressione del CD56 e del CD138 (B-B4) è un'indicazione di malignità delle plasma cellule nel mieloma multiplo, sebbene questo non succeda in tutti i campioni. Nei tumori del polmone l'anticorpo MOC-1 è d'aiuto nel discriminare la SCLC dalla non-SCLC.

Utilizzo

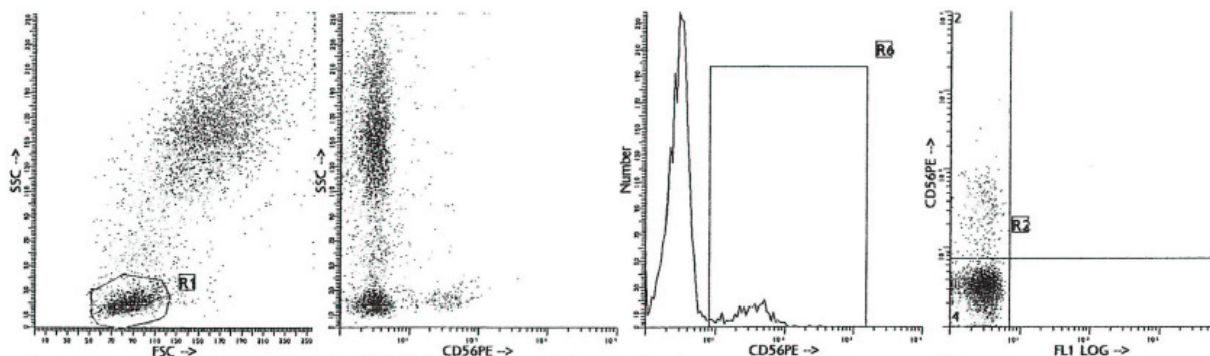
Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per la colorazione diretta di immunofluorescenza di tessuti umani per analisi di citometria utilizzando 10 µl/10⁶ di leucociti per singola colorazione e 20 µl/10⁶ di leucociti nel caso di doppia o tripla combinazione. Nel caso le applicazioni variassero, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere il risultato ottimale.

Workshop HLDA

6th Leukocyte Typing Workshop - Kishimoto et al. eds. 1998.

Dati Rappresentativi

Analisi di citometria a flusso sono illustrati qui di seguito colorando con anticorpi monoclonali CD56, clone MOC-1 un campione di cellule di sangue normale. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con R-PE e 100 µl di campione di sangue.



Riproducibilità

Gli anticorpi monoclonali prodotti IQ Products vengono testati in citometria a flusso utilizzando la metodica 'lyse-wash' su sangue intero di donatori sani. I dati ottenuti supportano la premessa che questi reagenti sono equivalenti nella loro reattività con i linfociti di sangue periferico. I valori sono espressi in termini di % della conta dei linfociti totali (vedi tabella).

Reagente	n	% media positiva	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD56 R-PE	10	12,74	3,55	27,85	IQP-114R

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 dotazioni

- 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 ca. 10⁶ leucociti) ad una 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 ciò dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

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

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10⁶ leucociti) ad una 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 coniugato*. 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 100µl di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10⁶ leucociti) ad una 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 20 µl di combinazione di anticorpi monoclonali coniugati*
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).

* Adeguate campioni di controllo di isotipo 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

Risospesondere 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. De Leij, L., et al., 1985. Cancer Research 45: 2192-2200
 2. De Leij, L., et al., 1987. CHEST 91S: 9-11
 3. Berendsen, H.H.,etal., 1988. Clin. Pathol. 41: 273-276
 4. Berendsen, H.H., et al., 1988. Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 24: 915-922
 5. Berendsen, H.H., et al., 1989. J. Clin Oncology 7: 1614-1620
 6. Van Camp, B., 1990. Blood, 76, 377-382
 7. Kishimoto et al. eds. 1998. Leukocyte Typing VI. Kobe, Japan
-

Legenda dei simboli

	Consultare le Istruzioni per l'uso
	Numero di catalogo
	Sufficiente per
	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Attenzione, consultare il documento allegato
	Conservare al riparo dalla luce (solare)
	Rischio biologico
	Limiti di temperatura (°C)
	Ad esclusivo uso di ricerca
	Codice del lotto
	Utilizzare entro aaaa-mm-gg
	Fabbricante
	Mandatario nella Comunità Europea
	Conformité Européenne (Conformità Europea)

		Label - tandem purified material	Ex -max (nm)	Em -max (nm)
P	PURE	-	-	-
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