

## FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

### Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

#### CD33

PURE  
R-PE  
APC

RUO  
IVD  
RUO

REF  
REF  
REF

IQP-146P  
IQP-146R  
IQP-146A

▽ 100 tests  
▽ 100 tests  
▽ 100 tests

RUO  
IVD

**Da usare esclusivamente nella ricerca**  
**Da usare nella diagnostica in vitro**



#### Descrizione

#### Clone

WM53

#### Isotipo

murino IgG1

#### Specificità

WM53 determina l'antigene del CD33, una proteina del peso molecolare di 67 kDa.

#### Distribuzione antigenica

WM53 reagisce con l'antigene CD33 espresso sui monociti del sangue umano periferico e debolmente sui granulociti. Questa espressione si trova anche sulle cellule progenitrici mieloidi quali i precursori delle cellule dei granulociti e dei macrofagi nel midollo osseo. Nessuna reattività è stata trovata sui linfociti normali, sugli eritrociti e sulle piastrine e nemmeno sulle cellule staminali pluripotenti. In aggiunta il clone WM53 reagisce con le linee cellulari mieloidi HL-60, KG-1, e U937.

#### Sommario

L'antigene CD33 è un importante marcatore per la determinazione delle normali cellule mieloidi e la loro controparte maligna. CD33 può essere applicato nella classificazione delle leucemie.

#### Applicazioni

WM53, viene utilizzato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e midollo osseo, oppure in immunostochimica utilizzando sezioni di tessuto congelato. L'applicazione in immunostochimica include reattività con istiociti, con una percentuale di cellule di Langerhans e con macrofagi perivascolari di sezioni di tessuto quali la pelle. Utilizzando WM53 si possono discriminare sottotipi di leucemie acute. Per esempio, CD33 è utilizzato in combinazione con gli anticorpi CD11b e CD13. Entrambi gli antigeni sono presenti sulla maggior parte delle Leucemie Mieloidi (AML, acute myeloid leukemia), sulle leucemie mielomonocitiche e sulle leucemie promielocitiche. In contrasto la leucemia eritroblastica acuta e la leucemia megacarioblastica non mostrano la presenza di questi due antigeni. CD33 generalmente non viene espresso sulle ALL, quail T-ALL (Acute Lymphoblastic Leukemia) e B-ALL, ed è inoltre utile come marker antigenico per definire le cellule di leucemia mieloide. Comunque studi fatti su una larga popolazione di pazienti con Leucemia Acuta il CD33 è risultato positivo con i precursori B (common) delle ALL. Curiosamente l'antigene del CD33 non è presente sulle cellule staminali CD34+, mentre cellule differenziate ulteriormente, es. cellule progenitrici dei Granulociti, Monoliti/Macrofagi, cellule eritroidi e cellule della linea megacariocitica, esprimono il CD33. Comunque gli anticorpi CD33 possono essere utilizzati per la purificazione del midollo osseo nelle AML per trapianto autologo di midollo.

#### Utilizzo

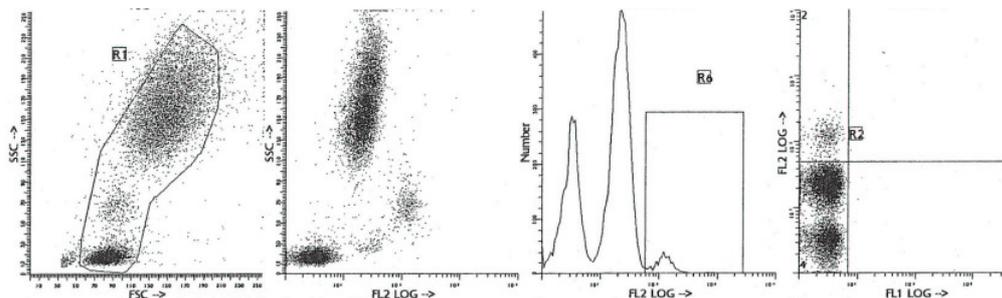
Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per la colorazione diretta di immunofluorescenza di tessuto umano per analisi di citometria a flusso utilizzando 10 µl/10<sup>6</sup> leucociti per singola marcatura e 20 µl/10<sup>6</sup> leucociti in caso di doppie o triple marcature. Se le applicazioni variano, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere il risultato ottimale.

#### HLDA Workshop

4<sup>th</sup> Leukocyte Typing Workshop - Knapp, W., et al., eds. 1990

#### Dati rappresentativi

Cellule di sangue normale colorate con l'anticorpo monoclonale CD33 (clone WM53) sono illustrate qui di seguito con analisi di citometria a flusso. 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 da IQ Products vengono testati in citometria a flusso utilizzando la metodica 'lyse-wash' su un campione di 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
CD33 R-PE	10	6,38	1,70	26,69	IQP-146R

## 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 richiesti ma non forniti

- 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<sup>6</sup> 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)<sub>2</sub> 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 circa 10<sup>6</sup> 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<sup>6</sup> 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).

\* 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  
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 (NaN<sub>3</sub>). 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 Favaloro, E.J. et al., 1988. Br.J. Hematol., 69, 163-171
- 2 Griffin, J.D. et al., 1983. Blood, 62, 557-563
- 3 Griffin, J.D. et al., 1984. Leukemia Res. 8, 521-534
- 4 Favaloro, E.J. et al., 1987. Disease Markers, 5, 215-225
- 5 Bradstock, K.F. et al., 1989. Br.J. Hematol., 72, 512-518
- 6 Robertson, M.J. et al., 1992. Blood, 79, 2229-2236
- 7 Peiper, S.C. et al., Leukocyte Typing IV, Vienna, 1989., Ed. W. Knapp et al. Oxford University Press, p 814-816

## 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)

		Etichetta - tandem	Ex - max (nm)	Em - max (nm)
P	PURE	Materiale purificato	-	-
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](mailto:marketing@iqproducts.nl)  
 Orders [orders@iqproducts.nl](mailto:orders@iqproducts.nl)  
 [www.iqproducts.nl](http://www.iqproducts.nl)