
PRODUCT INFORMATION SHEET
Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

Anti-TdT

| | | | | | |
|------|---|---|----------|---|----------|
| FITC | RUO | REF | IQP-149F | ▼ | 10 tests |
| FITC | RUO | REF | IQP-150F | ▼ | 50 tests |

RUO

Solo per uso di ricerca

Descrizione

Clone HT-6

Isotipo IgG1 murino

Specificità Il clone HT-6 produce le immunoglobuline IgG1 murine dirette contro l'antigene umano TdT, una proteina di 58 kD. Gli anticorpi anti-TdT reagiscono approssimativamente con meno del 10% delle cellule del midollo osseo, mentre in un normale campione di sangue vengono rilevate meno dello 0,1% delle cellule TdT-positive.

Distribuzione Antigenica

Il Terminal deossinucleotidil transferasi (TdT) è un enzima coinvolto nella polimerizzazione del DNA e si trova nel nucleo delle cellule ematopoietiche, come pro-timociti, precursori delle cellule T e un gruppo di precursori delle cellule B. Gli anticorpi prodotti dal clone HT-6, permettono di identificare il TdT intracellulare attraverso l'analisi citometrica. L'enzima TdT viene espresso in molti casi di leukemia linfatica acuta (ALL), in una sottoclasse di leucemia cronica o acuta (rispettivamente CML e AML), di leucemia non-linfocitica (ANLL) e di linfoma Non-Hodgkin (NHL) [1,2]. La determinazione dell'espressione nucleare dell'enzima TdT tramite citometria a flusso è una tecnica valida per la caratterizzazione delle leucemie e il monitoraggio del residuo minimo di cellule leucemiche.

Applicazioni

Gli anticorpi monoclonali anti-TdT-FITC, del clone HT-6, sono utilizzati in citometria a flusso per l'analisi su campioni di sangue o di midollo osseo. Questo reagente non può essere utilizzato su slide. L'espressione di TdT è nota come marcatore nucleare di cellule ematopoietiche [1]. L'antigene, una DNA-polimerasi, sembra essere coinvolto nel riarrangiamento dei geni per i recettori delle cellule T nei timociti e nel riarrangiamento dei geni delle immunoglobuline durante lo sviluppo delle cellule B. Entrambe le attività avvengono nel nucleo e vengono perse durante la maturazione delle cellule immunitarie. L'analisi citofluorimetrica è utile nell'identificazione di un piccolo numero di cellule leucemiche, come il residuo minimale di cellule T nell'ALL [3]. Inoltre, l'analisi simultanea degli antigeni di superficie cellulari e del TdT nucleare permette un'identificazione affidabile dello 0,02% delle cellule leucemiche [4]. La doppia marcatura di campioni T-ALL spesso viene eseguita con anti-TdT in combinazione con anticorpi CD1a, CD2, CD5, e CD7. Un'utile determinazione citofluorimetrica a tre colori per analisi di cellule leucemiche, coinvolge un gate con CD45, e marcatori intracellulari di analisi, quali TdT e marcatori di membrana es. CD19 in campioni dei precursori B-ALL [6].

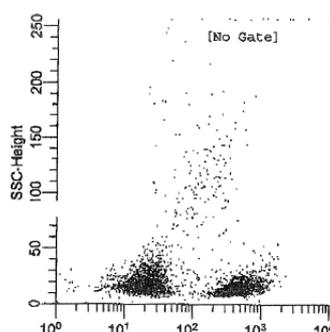
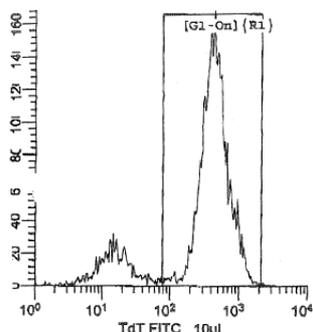
TdT è espressa in un subset di AML (circa 15%), e potrebbe essere indicativa di una scarsa prognosi in un sottogruppo di pazienti [4,5]. Analisi di citometria a flusso di AML mostrano risultati confrontabili con le procedure di microscopia.[5]. Comparazioni di determinazioni di TdT al microscopio ed in citometria a flusso mostrano risultati sovrapponibili.[5]. La sensibilità della determinazione dei mieloblasti potrebbe essere rafforzata ai livelli di circa 0.4-0.5% di cellule, utilizzando la tecnica della doppia colorazione. Anticorpi monoclonali utilizzati per doppia colorazione di campioni di AML sono ad es. anticorpi anti-HLA-DR, CD13, CD33, CD34 e CD45.

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 colorazioni single e 20 µl/106 leucociti in caso di doppie e triple marcature. Se le applicazioni variassero, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere risultati ottimali.

Dati rappresentativi

Una preparazione di anticorpi monoclonali coniugati con FITC HT-6 (anti-TdT) è stata analizzata in citometria a flusso utilizzando un campione di midollo osseo da un paziente T-ALL. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo monoclonale e 100 µl di cellule di midollo osseo purificate con Ficoll Isopaque.



Limitazioni

1. I coniugati con fluorocromi più brillanti quali PE e APC, presenteranno una maggiore separazione rispetto ai coniugati con i fluorocromi quali FITC, CyQ e PerCP. 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. Citofluorimetro
2. Provette per citofluorimetro 12 x 75-mm tappate in polistirene
3. Micropipette con puntali monouso
4. Agitatore Vortex
5. Centrifuga
6. IQ Lyse - erythrocyte soluzione lisante (IQP-199)
7. IQ Starfiqs - soluzione fissativa e permeabilizzante (IQP-200)
8. PBS (tampone fosfato salino)
9. Soluzione di PBS all'1% in paraformaldeide (conservare a 2-8 °C in vetro scuro per una settimana)

Protocollo per colorazione di immunofluorescenza di antigeni intracellulari

IQ Starfiqs è una soluzione di fissazione e permeabilizzazione finalizzata per la preparazione di leucociti del sangue prima dell'analisi al citofluorimetro di antigeni intracellulari. IQ Starfiqs è un prodotto pronto all'uso, composto da due reagenti utilizzati sequenzialmente. La composizione di entrambi i reagenti è aggustata per assicurare un ottimo risultato nelle analisi di citometria a flusso. Entrambi i reagenti dovrebbero essere tenuti a 2 - 8 °C fino alla data di scadenza indicata.

Per colorazioni ottimali intracellulari e lisi di eritrociti, IQ Starfiqs dovrebbe essere utilizzato seguendo la completa procedura come indicato di seguito (vedi protocollo). IQ Starfiqs permette la determinazione di antigeni intracellulari quali CyCD3, CyCD22, TdT e MPO (mieloperossidasi).

In aggiunta, l'applicazione di IQ Starfiqs permette la simultanea determinazione di antigeni di superficie cellulare (vedi protocollo esteso IQ Starfiqs). È importante utilizzare entrambi i reagenti e non miscelarli con altri prodotti. IQ Starfiqs è fornito come prodotto pronto all'uso, per minimizzare il tempo di lavoro manuale e per una facile manipolazione dei campioni.

Protocollo IQ Starfiqs (colorazione di antigeni intracellulari)

- Aggiungere 100 µl di sangue intero trattato con EDTA (campione di midollo osseo, sospensione di cellule mononucleate) in una provetta.
- Aggiungere 100 µl IQ Starfiqs reagente fissativo (Reagente F).
- Incubare per 15 minuti a temperature ambiente.
- Aggiungere 4 ml di tampone fosfato salino pH 7.3 e centrifugare per 5 minuti a 300xg.
- Rimuovere il surnatante e risospendere il pellet di cellule in 100 µl del reagente permeabilizzante IQ Starfiqs (Reagente P).
- Aggiungere 10 µl di anticorpo coniugato IQ Products per il reagent singolo o 20 µl di anticorpo coniugato per il doppio marcato.
- Incubare per 15 minuti a temperature ambiente.
- Aggiungere 4 ml di tampone fosfato salino pH 7.3 e centrifugare per 5 minuti a 300xg.
- Rimuovere il surnatante e risospendere il pellet cellulare in 200 µl di tampone fosfato salino.

Protocollo esteso IQ Starfiqs (colorazione di antigeni di superficie cellulare e di antigeni intracellulari)

- Aggiungere l'anticorpo coniugato in una provetta :10 µl di anticorpo coniugato per il singolo reagent diretto contro un antigene di superficie cellulare.
- Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA o Eparina e miscelare bene.
- Incubare per 15 minuti a temperature ambiente e al buio.
- Aggiungere 4 ml di tampone fosfato salino pH 7.3 e centrifugare per 5 minuti a 300xg.
- Rimuovere il surnatante.
- Aggiungere 100 µl IQ Starfiqs reagente fissativo (Reagente F).
- Incubare per 15 minuti a temperature ambiente.
- Aggiungere 4 ml di tampone fosfato salino pH 7.3 e centrifugare per 5 minuti a 300xg.
- Rimuovere il surnatante e risospendere il pellet di cellule in 100 µl di IQ Starfiqs reagente Permeabilizzante (Reagente P).
- Aggiungere 10 µl di IQ Products di anticorpo coniugato per singolo reagent diretto contro un antigene intracellulare.
- Incubare per 15 minuti a temperature ambiente.
- Aggiungere 4 ml di tampone fosfato salino pH 7.3 e centrifugare per 5 minuti a 300xg.
- Rimuovere il surnatante e risospendere il pellet cellulare in 200 µl di tampone fosfato salino.



Manipolazione e conservazione

Gli anticorpi sono forniti in fiala da 0,5ml per 100 test per la singola coniugazione, o per 50 tests (1 ml) per le fiale di doppia e tripla combinazione. Essi sono forniti in sodio fosfato 0.01 M, 0.15 M di NaCl; pH 6.9, 1.0% BSA, 0.1% sodioazide (NaN₃). Conservare le fiale a 2-8 °C. Gli anticorpi monoclonali dovrebbero essere protetti da esposizioni prolungate alla luce. I reagenti sono stabili per il periodo mostrato sull'etichetta della fiala quando conservati correttamente.

Garanzia

I prodotti venduti sono garantiti solo in conformità alla quantità e ai contenuti dichiarati in etichetta al tempo della spedizione al cliente. Non ci sono garanzie, espresso o implicite, che si estendono oltre alla descrizione dell'etichetta del prodotto. IQ Products non è responsabile per Danni alla proprietà, al personale o perdita economica causata dal prodotto.

Caratterizzazione

Per assicurare costantemente l'alta qualità dei reagenti, ogni lotto di anticorpo monoclonale è testato per essere conforme con le caratteristiche di un reagente standard Il dato rappresentativo citometrico è incluso in questo foglio illustrativo.

Attenzione

Tutti i prodotti contengono sodioazide. Questo prodotto chimico è velenoso e pericoloso. Dovrebbe essere manipolato solo da personale esperto.

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

 Orders orders@iqproducts.nl www.iqproducts.nl

Products
bright fluorescence



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