PRODUCT INFORMATION SHEET
Monoclonal antibodies detecting human antigens

Anti-TdT

FITC	ORALL	REF	IQP-149F	10 tests
FITC	ORALL	REF	IQP-150F	50 tests

ORALL ***Exclusivamente para uso em investigação***

Descrição

Clone HT-6

Isotipo Mouse IgG1

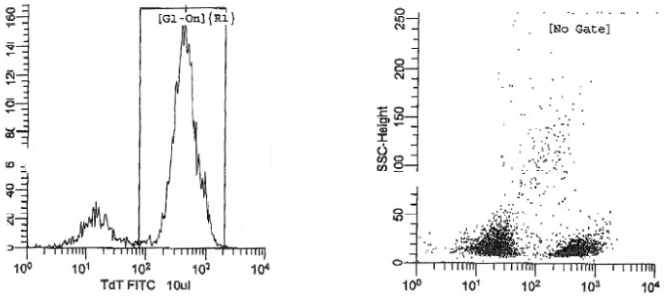
Especificidade Clone HT-6 produz IgG1 imunoglobulinas dirigido contra o antígeno humano TdT. TdT é uma proteína 58 kD. Anticorpos Anti-TdT são reativas com aprox. menos de 10% de células de medula óssea, enquanto menos de 0,1% de TdT-células positivas são encontradas em amostras de sangue.

Distribuição de antígenos:
Terminal deoxynucleotidyl transferase (TDT) é uma enzima que está envolvida na polimerização do DNA e está localizada no núcleo das células hematopoiéticas, por exemplo prothymocytes, precursor T- e um subconjunto de células B precursoras. Clone HT-6, pode detectar anticorpos intracelulares TdT por citometria de fluxo e análise. TdT é expressa na maioria dos casos de leucemia linfática aguda (TODOS), em um subconjunto de leucemia mielóide crônica ou aguda (LMC e LMA respectivamente), leucemia linfocitica aguda não (ANLL) e linfoma não-Hodgkin (LNH) [1,2]. Detecção de expressão nuclear da TdT por citometria de fluxo é uma valiosa técnica na caracterização das leucemias e monitoramento de células leucêmicas residuais mínimos.

Aplicativos Anticorpos monoclonais anti-TdT-FITC, clone HT-6, pode ser aplicado em citometria de fluxo para análise de sangue ou de amostras de medula óssea. Este reagente é não se destinam para uso em testes de slide TdT. Expressão da TdT tem sido conhecido por muitos anos como um marcador nuclear para células hematopoiéticas [1]. O antígeno, uma polimerase do ADN, se acredita ser envolvidos no rearranjo do receptor de células T genes no início os timócitos e no rearranjo dos genes de imunoglobulina durante o desenvolvimento de células B. Ambas as actividades são realizadas no núcleo e são perdidas durante a maturação das células imunes. Análise por citometria de fluxo pode ser útil na detecção de pequenos números de células leucêmicas, como em todas as células T residual mínimo [3]. Além disso, análise simultânea dos antígenos de superfície celular e nuclear TdT permite a detecção confiável de como poucos como 0,02% de células leucêmicas [4]. A dupla coloração de T-Todas as amostras são muitas vezes realizadas com anti-TdT em combinação com CD1a, CD2, CD5 e anticorpos CD7. Um útil três cores em citometria de fluxo e método de detecção para a análise de células leucêmicas, envolve gating com CD45 e análise da concentração intracelular de marcadores como TdT e como marcador da membrana celular por exemplo CD19 em amostras de precursores B-TODOS OS [6].

TdT é expressa em um subconjunto de AML (aprox. 15%), e pode ser um indicativo de mau prognóstico em um subgrupo de pacientes [4,5]. Citometria de fluxo e análise de LMA mostra resultados comparáveis para os procedimentos microscópicos [5]. Comparação de microscópicos e citometria de fluxo e detecção de TdT apresentaram resultados comparáveis [5]. A sensibilidade da detecção de mieloblastos maiores poderia ser reforçada para níveis de aproximadamente 0,4-0.5% das células, utilizando a técnica de dupla coloração. Os anticorpos monoclonais utilizados para a dupla coloração de LMA amostras são por exemplo anti-HLA-DR, CD13, CD33, CD34 e CD45 anticorpos.

Utilização Todos estes reagentes são efetivamente formuladas para coloração de imunofluoresc cia direta do tecido humano para análise de citometria de fluxo usando 10 µL/10^6 leucócitos para solteiros e 20 µL/10^6 leucócitos no caso de combinações de duplas e triplas. Visto que os aplicativos variam, cada investigador deve dosear o reagente para obter resultados ideais.



Dados representativos

Uma preparação de conjugado FITC-HT-6 (anti-TdT) anticorpos monoclonais foi analisada por citometria de fluxo usando uma amostra de medula óssea a partir de uma célula T dos pcientes. Foi realizada a coloração direta usando 10 µl de preparação de anticorpos monoclonais e 100 µl de Ficoll Isopaque purificada de células da medula óssea.

Limitações

1. Conjugados com fluorocromos mais brilhante, como PE e a APC, terá uma maior separação do que aqueles com corantes como FITC e trimestre. Quando as populações se sobrepõem, a percentagem de células positivas usando um marcador selecionado pode ser afetada pela escolha da etiqueta fluorescente.
2. Uso de anticorpos monoclonais no tratamento do paciente pode interferir com o reconhecimento pelo antigen target este reagente. Este facto deve ser tido em conta quando são analisadas amostras de pacientes tratados desta forma. Produtos IQ não tem caracterizado o efeito da presença de anticorpos terapêuticos sobre o desempenho deste reagente.
3. Os reagentes podem ser utilizados em combinações diferentes laboratórios, portanto necessidade de conhecer as características de desempenho de cada anticorpo em relação com a combinação de marcadores nas amostras normais e anormais.
4. Reagente de desempenho de dados é baseado em EDTA-sangue tratado. Desempenho de reagente pode ser afetado pelo uso de outros anticoagulantes.

Reagentes e materiais necessários mas não fornecidos

1. Em citômetro de fluxo
2. Citometria de fluxo descartável 12 x 75 mm de poliestireno cobertas de tubos de ensaio
3. Micropipeta com pontas descartáveis
4. Agitador de vórtice
5. Centrífuga
6. IQ lisar - solução de lise de hemácias (IQP-199)
7. IQ Starfiqs - Fixação e permeabilização solução (IQP-200)
8. PBS (solução salina tamponada com fosfatos)
9. Solução de paraformaldeído a 1% em PBS (armazenar a 2-8 °C em vidro âmbar para até 1 semana)

Protocolo para a coloração imuno-fluorescência de antígenos intracelulares

IQ Starfiqs é uma fixação e permeabilização solução destinada à preparação de leucócitos de sangue antes de citometria de fluxo análise de antígenos intracelulares. **IQ Starfiqs** é um produto pronto a usar, composto de dois reagentes utilizados sequencialmente. A composição dos reagentes é ajustado para garantir um ótimo desempenho na análise de citometria de fluxo. Ambos os reagentes devem ser armazenadas a 4 - 8 °C até que o período de expiração como indicado.

Para uma óptima imunocoloração intracelular e lise de eritrócitos, **IQ Starfiqs** deve ser utilizado seguindo o procedimento completo conforme indicado abaixo (consulte protocolo). **IQ Starfiqs** permite a detecção de antígenos intracelulares tais como CyCD3, CyCD22, TdT e MPO (mieloperoxidase). Resultados da análise de amostras de sangue para detecção de MPO intracelular são mostrados abaixo.
Além disso, a aplicação do **IQ Starfiqs** permite a detecção simultânea de antígenos de superfície celular (ver protocolo prorrogado **Starfiqs IQ**). É importante a utilização de reagentes e não misturar com outros produtos. **IQ Starfiqs** é fornecido como um produto pronto a usar, para minimizar as mãos sobre o tempo e o manuseamento fácil de amostras.

Protocolo IQ Starfiqs (coloração de antígenos intracelulares)

- Adicionar 100 µl EDTA tratados de sangue total (amostra de medula óssea, suspensão de células mononucleares) para um tubo de reagente.
- Adicionar 100 µl **IQ Starfiqs** com o reagente de fixação (F).
- Incubar durante 15 minutos à temperatura ambiente.
- Adicionar 4 ml de solução salina tamponada com fosfato pH 7,3 e centrifugar durante 5 minutos a 300xg.
- Remova a fracção sobrenadante e colocar novamente as células em 100 µl de pelotas **IQ Starfiqs com o reagente de** permeabilização reagente(P).
- Adicionar 10 µl de produtos IQ anticorpo conjugado para reagente único, ou 20 µl do anticorpo conjugado para dual reagente.
- Incubar durante 15 minutos à temperatura ambiente.
- Adicionar 4 ml de solução salina tamponada com fosfato ph 7,3 e centrifugar durante 5 minutos a 300xg.
- Remova a fracção sobrenadante e colocar novamente as células em pelotas 200 µl de solução salina tamponada com fosfato.

Protocolo prorrogado IQ Starfiqs (coloração de antígenos de superfície celular e antígenos intracelulares)

- Adicionar a um reagente conjugado anticorpo tubo: 10 µl do anticorpo conjugado para reagente único dirigido contra um antígeno de superfície celular.
- Adicionar 100 µl de EDTA ou tratados com heparina todo o sangue e misture bem.
- Incubar durante 15 minutos à temperatura ambiente no escuro.
- Adicionar 4 ml de solução salina tamponada com fosfato pH 7,3 e centrifugar durante 5 minutos a 300xg.
- Remova o sobrenadante.
- Adicionar 100 µl **IQ Starfiqs** reagente com o reagente de fixação (F).
- Incubar durante 15 minutos à temperatura ambiente.
- Adicionar 4 ml de solução salina tamponada com fosfato pH 7,3 e centrifugar durante 5 minutos a 300xg.
- Extrair a fracção sobrenadante e colocar novamente as células em 100 µl de pelotas **IQ Starfiqs com o reagente de** permeabilização (P).
- Adicionar 10 µl de produtos IQ anticorpo conjugado para reagente único dirigido contra um antígeno intracelular.
- Incubar durante 15 minutos à temperatura ambiente.
- Adicionar 4 ml de solução salina tamponada com fosfato pH 7,3 e centrifugar durante 5 minutos a 300xg.
- Remova a fracção sobrenadante e colocar novamente as células em pelotas 200 µl de solução salina tamponada com fosfato.

Manuseamento e armazenagem

Os anticorpos são fornecidos como 100 testes por frasco (1 mL) para solteiros ou 50 testes por frasco (1 mL) para combinações duplas e triplas. Eles são fornecidos em fosfato de sódio 0,01 M, 0,15 M NaCl; pH 6,9, 1,0%, 0,1% sodiumazide BSA (NaN3). Armazenar os tubos a 2-8 °C. Os anticorpos monoclonais devem ser protegidos da exposição prolongada à luz. Os reagentes são estáveis durante o período indicado no rótulo do frasco quando armazenado corretamente

Garantia Produtos vendidos aqui são justificáveis apenas em conformidade com a quantidade e o conteúdo indicado na etiqueta no momento de entrega ao cliente. Não existem quaisquer garantias expressas ou implícitas que ultrapassam a descrição no rótulo do produto. Produtos IQ não é responsável por danos de propriedade, ferimentos pessoais ou prejuízos económicos causados pelo produto

Caracterização

Para garantir consistentemente os reagentes de alta qualidade, cada lote de anticorpo monoclonal é testado para conformidade com características de um reagente padrão. Representante citometria de fluxo de dados está incluído nesta folha de dados

⚠

Aviso Todos os produtos contêm sodiumazide. Este produto químico é venenoso e perigosos. Tratamento deve ser feito por pessoal treinado apenas

---

Referências

1. [Bollum, 1979. Sangue, 54, 1203-1215
2. Slaper-Cortenbach, I.C.M. et al . 1988. Sangue, 72, 1639-1644
3. Gore, S.D. et al1990. Trans Am Clin Climatol Assoc.. Métodos,, 132, 275-286
4. Drach, J. et l. 1991. Br. J. Hematol37-42, 77,
5. Paiettta, E. et al, 1994. Citometria de 16 256-261
6. Horvatinovitch, J.M. et al . 1994. Citometria de fluxo, 18, 228-230

Explicação dos símbolos utilizados

	Consulte as instruções de uso
	Número de catálogo
	Suficiente para
	Cuidado, consulte documento de acompanhamento
	Manter afastado de luz solar
	Riscos biológicos
	Limitação de Temperatura (°C)
	Exclusivamente para uso em investigação
	Código de lote
	Utilização por aaaa-mm-dd
	Fabricante

		Etiqueta - tandem	**Ex -max (nm)**	**Em -max (nm)**
P	Puro	Material purificado	-	-
F	FITC	FITC	488	519
R	R-PE	PE	488, 532	578
C	Trimestre de	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, Países Baixos

+31 (0)50 57 000
+31 (0)50 57 002
 Técnica marketing@iqproducts.nl
Encomendas orders@iqproducts.nl
 www.iqproducts.nl

IQ Products®
bright fluorescence