
HOJA DE INFORMACIÓN DEL PRODUCTO

Anticuerpos monoclonales que detectan antígenos humanos

Anti-TdT

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

RUO *Uso exclusivo en investigación*



Descripción

Clona HT-6

Isotipo IgG1 de ratón

Especificidad La clona HT-6 produce inmunoglobulinas IgG1 de ratón dirigidos contra el antígeno TdT humano. TdT es una proteína de 58 kD. Los anticuerpos anti-TdT son reactivos con aprox. menos de 10% de células de la médula ósea, mientras que menos del 0.1% de las células TdT-positivas se encuentran en muestras de sangre normales.

Distribución del antígeno

La desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT) es una enzima que está implicada en la polimerización de ADN y se localiza en el núcleo de las células hematopoyéticas, por ejemplo protimocitos, precursores-T y un subconjunto de células B precursoras. Los anticuerpos de la clona HT-6, pueden detectar TdT intracelular mediante análisis de citometría de flujo. El TdT se expresa en la mayoría de los casos de leucemia linfática aguda (LLA), en un subtipo de leucemia mieloide crónica o aguda (LMC y LMA, respectivamente), leucemia no linfocítica aguda (LNLA) y de linfoma no Hodgkin (LNH) [1,2]. La detección de la expresión nuclear de TdT por citometría de flujo es una técnica valiosa en la caracterización de las leucemias y el seguimiento de las células leucémicas residuales mínimas.

Aplicaciones

Los anticuerpos monoclonales anti-TdT-FITC, clona HT-6, se pueden aplicar en la citometría de flujo para el análisis de muestras de sangre o de médula ósea. Este reactivo no está destinado para uso de TdT en pruebas de lámina. La expresión de TdT se conoce desde hace muchos años como un marcador nuclear de células hematopoyéticas [1]. El antígeno, una ADN polimerasa, se cree que está implicado en el reordenamiento de genes de receptores de células T en los primeros timocitos, y en el reordenamiento de los genes de las inmunoglobulinas durante el desarrollo de las células B. Ambas actividades se llevan a cabo en el núcleo y se pierden durante la maduración de las células inmunes. Análisis por citometría de flujo puede ser útil en la detección de pequeños números de células leucémicas, tal como las células T mínimo residuales de LLA [3]. Además, el análisis simultáneo de antígenos de superficie celular y TdT nuclear permite la detección fiable de tan pocos como 0.02% de las células leucémicas [4]. La doble tinción de muestras de LLA-T se realizan a menudo con anti-TdT en combinación con los anticuerpos CD1a, CD2, CD5, y CD7. Un útil método de citometría de flujo de tres colores de detección para el análisis de las células leucémicas, implica gating con CD45, y el análisis de marcadores intracelulares, tales como TdT y marcadores de membrana celular por ejemplo CD19 en muestras de LLA-B precursores [6].

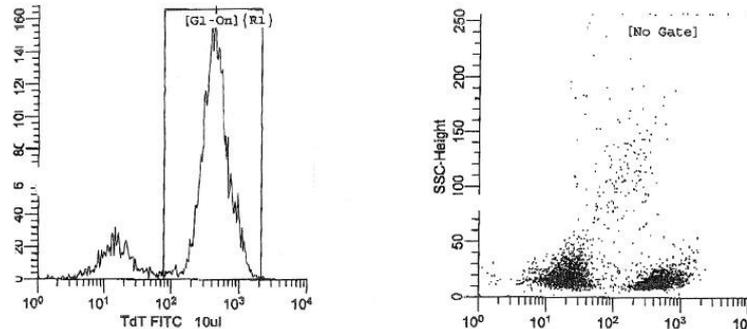
TdT se expresa en un subtipo de LMA (aprox. 15%), y puede ser indicativo de un mal pronóstico en un subgrupo de pacientes [4,5]. El análisis por citometría de flujo de LMA muestra resultados comparables a los procedimientos microscópicos [5]. La comparación de la detección microscópico y de citometría de flujo de TdT mostró resultados comparables [5]. La sensibilidad de la detección de mieloblastos podría mejorarse a niveles de aprox. 0.4-0.5% de las células, usando la técnica de doble tinción. Los anticuerpos monoclonales utilizados para la doble tinción de muestras de LMA son, por ejemplo anticuerpos anti-HLA-DR, CD13, CD33, CD34 y CD45.

Uso

Todos estos reactivos se formulan de manera efectiva para la tinción de inmunofluorescencia directa de tejido humano para el análisis de citometría de flujo usando 10 µl/10⁶ leucocitos para tinciones individuales y 20 µl/10⁶ leucocitos en caso de combinaciones dobles y triples. Dado que las aplicaciones varían, cada investigador debe titular el reactivo para obtener resultados óptimos.

Datos representativos

Una preparación de anticuerpos monoclonales HT-6 conjugados con FITC (anti-TdT) se analizó mediante citometría de flujo utilizando una muestra de médula ósea de un paciente con LLA-T. La tinción directa se realizó usando 10 µl de preparación de anticuerpo monoclonal y 100 µl de células de médula ósea purificadas con Ficoll Isopaque.



Limitaciones

1. Los conjugados con fluorocromos más brillantes, como PE y APC, tendrán una separación mayor que aquellos con colorantes como FITC y CyQ. Cuando las poblaciones se superponen, el porcentaje de células positivas utilizando un marcador seleccionado puede verse afectada por la elección del marcador fluorescente.
2. El uso de anticuerpos monoclonales en el tratamiento del paciente puede interferir con reconocimiento del antígeno diana por este reactivo. Esto debe tenerse en cuenta cuando las muestras se analizaron a partir de los pacientes tratados de esta manera. IQ Products no ha caracterizado el efecto de la presencia de anticuerpos terapéuticos en el rendimiento de este reactivo.
3. Los reactivos se pueden usar en diferentes combinaciones, por lo tanto, los laboratorios necesitan familiarizarse con las características de rendimiento de cada anticuerpo en relación con los marcadores combinados en muestras normales y anormales.
4. Los datos de rendimiento del reactivo se basa en sangre tratada con EDTA. El rendimiento del reactivo puede verse afectada por el uso de otros anticoagulantes.

Reactivos y materiales necesarios pero no suministrados

1. Citómetro de flujo
2. Tubos de ensayo para citometría de flujo de poliestireno con tapa 12 x 75 mm desechables
3. Micropipeta con puntas desechables
4. Mezclador Vortex
5. Centrífuga
6. IQ de Lyse - Solución de lisis de eritrocitos (IQP-199)
7. IQ Starfiqs - Solución de fijación y permeabilización (código de producto IQP-200)
8. PBS (Solución salina tamponada con fosfato)
9. Solución de 1% de paraformaldehído en PBS (almacenar a 2-8°C en vidrio ámbar por un máximo de 1 semana)

Protocolo para la tinción de inmunofluorescencia de antígenos intracelulares

IQ Starfiqs es una solución de fijación y permeabilización destinado a la preparación de leucocitos de sangre antes del análisis de citometría de flujo de antígenos intracelulares. **IQ Starfiqs** es un producto **listo para usar**, compuesto de dos reactivos utilizados de forma secuencial. La composición de ambos reactivos se ajusta para asegurar un rendimiento óptimo en el análisis por citometría de flujo. Ambos reactivos deben almacenarse a 2-8°C hasta el periodo de expiración como se indica.

Para la inmunotinción intracelular óptima y de lisis de eritrocitos, **IQ Starfiqs** debe utilizarse siguiendo el procedimiento completo como se indica a continuación (véase el protocolo). **IQ Starfiqs** permite la detección de intracelular antígenos tales como CYCD3, CyCD22, TdT y MPO (mieloperoxidasa). Los resultados del análisis de muestras de sangre para la detección intracelular de MPO se muestran a continuación.

Además, la aplicación de **IQ Starfiqs** permite la detección simultánea de antígenos de superficie celular (véase el protocolo extendido **IQ Starfiqs**). Es importante utilizar ambos reactivos y no mezclar con otros productos. **IQ Starfiqs** se proporciona como un producto listo para usar, a minimizar manos en hora y el fácil manejo de muestras.

Protocolo IQ Starfiqs (tinción inmuno-fluorescente de antígenos intracelulares)

- Añadir 100 µl de sangre entera tratada con EDTA (muestra de médula ósea, suspensión de células mononucleares) a un tubo de reactivo.
- Añadir 100 reactivo de fijación **IQ Starfiqs** (Reactivo F).
- Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Añadir 4 ml solución fosfato tamponado salino pH 7.3 y centrifugar durante 5 minutos a 300xg.
- Eliminar el sobrenadante y resuspender el sedimento celular en 100 µl de reactivo de permeabilización **IQ Starfiqs** (Reactivo P).
- Añadir 10 µl de anticuerpo conjugado IQ Products para un solo reactivo o 20 µl de anticuerpo conjugado para doble reactivo.
- Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Añadir 4 ml solución fosfato tamponado salino pH 7.3 y centrifugar durante 5 minutos a 300xg.
- Eliminar el sobrenadante y resuspender el sedimento celular en 200 µl de solución salina tamponada con fosfato.

Protocolo Extendido IQ Starfiqs (tinción de antígenos de superficie celular y antígenos intracelulares)

- Añadir el anticuerpo conjugado a un tubo de reactivo: 10 µl de anticuerpo conjugado para un solo reactivo dirigido contra un antígeno de superficie celular.
- Añadir 100 µl de sangre entera tratada con EDTA o heparina y mezclar bien.
- Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
- Añadir 4 ml solución fosfato tamponado salino pH 7.3 y centrifugar durante 5 minutos a 300xg.
- Eliminar el sobrenadante.
- Añadir 100 µl reactivo de fijación **IQ Starfiqs** (Reactivo F).
- Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Añadir 4 ml solución fosfato tamponado salino pH 7.3 y centrifugar durante 5 minutos a 300xg.
- Eliminar el sobrenadante y resuspender el sedimento celular en 100 µl de reactivo de permeabilización **IQ Starfiqs** (reactivo P).
- Añadir 10 µl de anticuerpo conjugado IQ Products para un solo reactivo dirigido contra un antígeno intracelular.
- Incubar durante 15 minutos a temperatura ambiente.
- Añadir 4 ml solución fosfato tamponado salino pH 7.3 y centrifugar durante 5 minutos a 300xg.
- Eliminar el sobrenadante y resuspender el sedimento celular en 200 µl de solución salina tamponada con fosfato.



Manejo y Almacenamiento

Los anticuerpos se suministran o bien como 100 pruebas por vial (1 ml) para combinaciones de un solo reactivo o 50 pruebas por vial (1 ml) para las combinaciones duales y triples. Se suministran en fosfato de sodio 0.01 M, 0.15 M NaCl; pH 6.9, 1.0% de BSA, 0.1% de azida de sodio (NaN₃). Almacenar los viales a 2-8 ° C. Los anticuerpos monoclonales se deben proteger de la exposición prolongada a la luz. Los reactivos son estables durante el periodo mostrado en la etiqueta cuando se almacenan correctamente.

Garantía

Los productos vendidos a continuación están garantizadas sólo para ajustarse a la cantidad y el contenido indicados en la etiqueta en el momento de la entrega al cliente. No hay garantías, explícitas o implícitas, que se extienden más allá de la descripción en la etiqueta del producto. IQ Products no es responsable de los daños materiales, lesiones o pérdidas económicas causadas por el producto.

Caracterización

Para asegurar constantemente reactivos de alta calidad, cada lote de anticuerpo monoclonal pasa por la prueba de conformidad con las características de un reactivo estándar. Datos representativos de citometría de flujo se incluye en esta hoja de datos.

Advertencia

Todos los productos contienen azida de sodio. Este producto químico es tóxico y peligroso. El manejo debe ser realizada por personal cualificado

Explicación de los símbolos usados

	Consulte las instrucciones de uso
	Número de catálogo
	Suficiente para
	Cuidado, consulte el documento adjunto
	Mantener fuera de la luz (solar)
	Riesgos biológicos
	Temperatura máxima (°C)
	Solo para uso en investigación
	Código de lote
	Usar hasta aaaa-mm-dd
	Fabricante

		Marcador - tándem	Ex -max (nm)	Em -max (nm)
P	PURE	material purificado	-	-
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

Referencias

1. Bollum, FJ 1979. Blood, 54, 1203-1215
2. Slaper-Cortenbach, ICM et al. 1988. Blood, 72, 1639-1644
3. Gore, SD et al. 1990. Immunol. Methods, 132, 275-286
4. Drach, J. et al. 1991. Br. J. Hematol, 77, 37-42
5. Paietta, E. et al., 1994. Cytometry 16 256-261
6. Horvatinovitch, JM et al. 1994. Cytometry, 18, 228-230



IQ Products BV
Rozenburglaan 13a
9727 DL Groningen
Países Bajos

-  +31 (0)50 57 57 000
-  +31 (0)50 57 57 002
-  Servicio Técnico marketing@iqproducts.nl
-  Pedidos orders@iqproducts.nl
-  www.iqproducts.nl

IQ Products
bright fluorescence