

## FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

### Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

#### CD106

PURE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-184P	▽	100 tests
FITC	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-184F	▽	100 tests

RUO **Ad esclusivo uso di ricerca**



#### Descrizione

**Clone** B-K9

**Isotipo** Murino IgG1

**Specificità** Clone B-K9 produce immunoglobuline di topo IgG1 dirette contro una proteina di 110 kD conosciuta come CD106 umano. Esso reagisce con circa il 15% dei linfociti periferici e con una percentuale tra il 30-90% di HUVEC attivati.

#### Distribuzione antigenica

L'antigene CD106 lega le integrine  $\alpha 4\beta 1$  (CD49d/CD29, VLA-4) e  $\alpha 4\beta 7$  [4]. VLA-4 è il ligando dominante nelle cellule che esprimono entrambe le integrine. Il CD106 endoteliale contribuisce fuoriuscita extravasale dei linfociti, monociti, basofili ed eosinofili (ma non neutrofili) dai vasi sanguigni, specialmente ai siti di infiammazione. L'interazione VLA-4 può essere mediata sia all'iniziale adesione e rotolamento dei linfociti sull'endotelio sia pure sul loro arresto susseguente e la ferma adesione [5]. L'espressione del CD106 su tessuti non vascolari si pensa che giochi un ruolo nell'interazione dei progenitori ematopoietici con le cellule stromali del midollo osseo, con il legame delle cellule B alle cellule dendritiche follicolari, nella co-stimolazione delle cellule T e nello sviluppo embrionario [1,2,3].

#### Sommario

L'antigene CD106 (molecola d'adesione delle cellule vascolari, VCAM-1) è espresso principalmente sull'endotelio vascolare ma è anche stata identificata sui follicoli e altri tessuti linfoidi di cellule dendritiche, alcuni macrofagi, con le cellule stromali del midollo osseo, e con le popolazioni cellulari non-vascolari nelle giunture, nel fegato, nel muscolo, nel cuore, nella placenta e nel cervello [1,2]. L'espressione sulle cellule endoteliali come pure su molte altre cellule è indotta da stimoli infiammatori e dalle citochine [1,3]. Il CD106 solubile rilasciato dalle cellule dell'endotelio attivate può essere determinate nel sangue.

#### Applicazioni

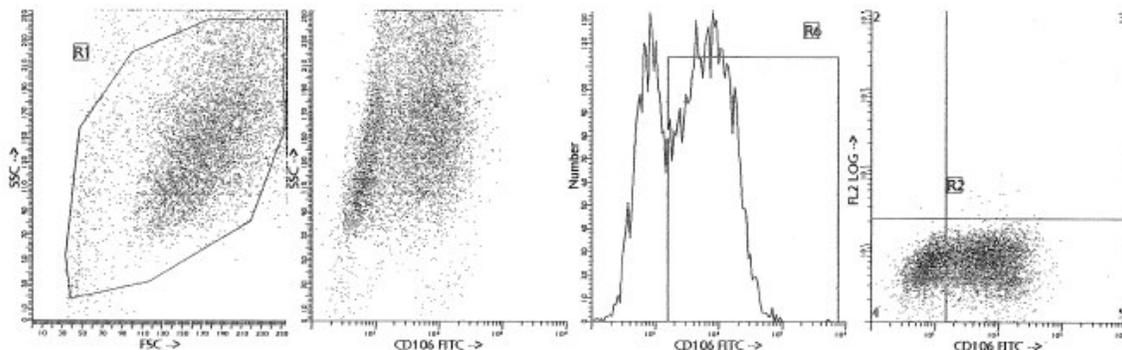
CD106, clone B-K9, può essere applicato in analisi di citometria a flusso di campioni di sangue e midollo osseo o in immunisto chimica utilizzando citospot o sezioni di tessuto congelato.

#### Utilizzo

Tutti questi reagenti sono effettivamente formulate per colorazioni di immunofluorescenza diretta di tessuti umani per analisi di citometria a flusso utilizzando  $10 \mu\text{l}/10^6$  leucociti per le single e  $20 \mu\text{l}/10^6$  leucociti in caso di doppie e triple combinazioni. Se le applicazioni variassero, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere risultati ottimali.

#### Dati rappresentativi

La reattività del clone B-K9 (CD106) è stato analizzato in citometria a flusso utilizzando HUVEC attivate con TNF- $\alpha$ . La colorazione diretta è stata eseguita utilizzando  $10 \mu\text{l}$  di anticorpo monoclonale coniugato con FITC e  $100 \mu\text{l}$  di sospensione cellulare.



## Limitazioni

1. Coniugati con fluorocromi più brillanti, quali PE e APC, avranno una separazione maggiore di quelli con coloranti quali FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, la percentuale di cellule positive utilizzando un marker selezionato può essere influenzato dalla scelta del fluorocromo.
2. L'utilizzo di anticorpi monoclonali in pazienti in trattamento può interferire con il riconoscimento dell'antigene target da parte di questo reagente. Questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando i campioni sono analizzati e provengono da pazienti trattati con terapia monoclonale. IQ Products non ha caratterizzato l'effetto della presenza di anticorpi terapeutici sulla prestazione di questo reagente.
3. I reagenti possono essere utilizzati in differenti combinazioni, comunque i laboratori necessitano di diventare familiari nelle caratteristiche di prestazione di ogni anticorpo in relazione con marcatori combinati in campioni normali e anormali.
4. Il dato della prestazione del reagente è basato su campioni di sangue trattato con EDTA. La prestazione del reagente può essere influenzata dall'uso di altri anticoagulanti.

## Reagenti e materiali richiesti ma non forniti

1. Citofluorimetro
2. Provette tappate 12 x 75-mm in polistirene per eseguire il test.
3. Micropipette con puntali monouso.
4. Miscelatore Vortex
5. Centrifuga
6. IQ Lyse – soluzione lisante per eritrociti (IQP-199)
7. IQ Starfix – soluzione fissativa e permeabilizzante (IQP-200)
8. PBS (tampone fosfato salino)
9. Soluzione all'1% di paraformaldeide in PBS (conservare a 2-8 °C in vetro scuro fino ad 1 settimana)

## Protocollo di colorazione di immunofluorescenza e lisi

### - A - Metodica di citometria a flusso per l'utilizzo di anticorpi monoclonali purificati

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (circa 10<sup>6</sup> leucociti) nella provetta da 5 ml. Il contenuto di ogni tubo è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere ad ogni tubo 10 µl di anticorpo monoclonale purificato \*. Agitare con il Vortex la provetta per assicurare una miscelazione dell'anticorpo con le cellule.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente al buio.
4. Lavare le cellule marcate aggiungendo 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) Eparina, agitare con vortex e centrifugare (2 min 1000 x g.) e scartare il surnatante.
5. Aggiungere 50 µl di IQ Products F(ab)<sub>2</sub> Rabbit Anti Mouse IgG coniugato fluorescente diluito 1:10, [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] in PBS contenente 0.001% (v/v) Eparina alla provetta. Si raccomanda di proteggere la provetta dalla luce.
6. Miscelare con il vortex e incubare per 15 minuti a temperatura ambiente ed al buio.
7. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronta all'uso) e miscelare immediatamente.
8. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente e al buio.
9. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
10. Centrifugare la sospensione di cellule coniugate per 2 minuti a 1000 x g.
11. Rimuovere il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS\*\*.
12. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternative, le cellule dovrebbero essere fissate con 0.05% di formaldeide in tampone salino per analizzarle il giorno dopo. Alcuni antigeni sono subito distrutti dalla fissazione e questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si utilizza questa alternativa). Immunofluorescence staining and lysing protocol.

### - B - Metodica di citometria a flusso per anticorpi monoclonali coniugati (FITC, R-PE, Cy-Q o APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (circa 10<sup>6</sup> leucociti) nella provetta da 5 ml. Il contenuto di ogni tubo è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere ad ogni provetta 10 µl di anticorpo monoclonale coniugato\*. Agitare con il Vortex la provetta per assicurare la miscelazione delle cellule con l'anticorpo.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente e al buio.
4. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
5. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente al buio.
6. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
7. Centrifugare la sospensione cellulare coniugata per 2 minuti a 1000 x g.
8. Rimuovere il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS\*\*.
9. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternative, le cellule dovrebbero essere fissate con 0.05% di formaldeide in tampone salino per analizzarle il giorno dopo. Alcuni antigeni sono subito distrutti dalla fissazione e questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si utilizza questa alternativa).

- C - *Metodica di citometria a flusso per l'utilizzo di doppie e triple combinazioni*

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (circa 10<sup>6</sup> leucociti) nella provetta da 5 ml .Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.  
**Per combinazioni con Ig anti-kappa e/o anti-lambda vedi nota applicativa qui sotto.**
2. Aggiungere ad ogni provetta 20 µl di combinazione di anticorpi monoclonali coniugati\*.
3. Agitare la provetta con il Vortex per assicurare la miscelazione degli anticorpi con le cellule.
4. Incubare la provetta per 15 minuti a temperature ambiente e al buio.
5. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199pronta all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare per 10 minuti a temperature ambiente e al buio.
7. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
8. Centrifugare la sospensione cellulare coniugata per 2 minuti a 1000 x g.
9. Rimuovere il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS\*\*.
10. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternative, le cellule dovrebbero essere fissate con 0.05% di formaldeide in tampone salino per analizzarle il giorno dopo. Alcuni antigeni sono subito distrutti dalla fissazione e questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si utilizza questa alternativa).

\* *Approprii campioni di controllo isotipico mouse Ig dovrebbero essere sempre inclusi in ogni studio di coniugazione*

\*\* *PBS: Tampone fosfato salino, pH 7.2*

**Nota applicativa per combinazioni di Ig anti-kappa e/o anti-lambda**

Aggiungere 2 ml di PBS contenente lo 0.001% (v/v) di Eparina (**preriscaldata a 37 °C**) alla sospensione cellulare  
Miscelare su vortex, centrifugare (2 min a 300x g) ed eliminare il surnatante  
Ripetere il passaggio 2 volte  
Risospendere le cellule ematiche in 100 µl di PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina



**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 7.3, 0.2% BSA, 0.09% sodioazide (NaN<sub>3</sub>). 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.

**Referenze**

1. Bevilacqua, M.P., 1993. Annu. Rev. Immunol. 11, 767-804.
2. Barclay a.N., et al. The Leukocyte Facts Book. Academic Press. 1997. 386-388
3. Carlos, T.M., and Harlan, J.M., 1994. Blood. 84. 2068-2101
4. Berlin, C., et al., Cell. 1993. 74, 185-195
5. Butcher, E.C., and Picker, L.J., 1996. Science. 272, 60-66

### Legenda dei simboli

	Consultare le Istruzioni per l'uso
<b>REF</b>	Numero di catalogo
	Sufficiente per
<b>IVD</b>	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Attenzione, consultare il documento allegato
	Conservare al riparo dalla luce (solare)
	Rischio biologico
	Limiti di temperatura (°C)
<b>RUO</b>	Ad esclusivo uso di ricerca
<b>LOT</b>	Codice del lotto
	Utilizzare entro aaaa-mm-gg
	Fabbricante
<b>EC REP</b>	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)

# IQP Products

bright fluorescence