

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD13

PURE	RUO	REF	IQP-531P	▽	100 tests
FITC	RUO	REF	IQP-531F	▽	100 tests
R-PE	RUO	REF	IQP-531R	▽	100 tests
APC	RUO	REF	IQP-531A	▽	100 tests

RUO
Ad esclusivo uso di ricerca


Descrizione

Clone WM15

Isotipo murino IgG1

Specificità L'anticorpo WM15 riconosce la glicoproteina umana della superficie della cellula CD13, una molecola da 150kD espressa sui granulociti, sulle cellule endoteliali, sulle cellule epiteliali e sui progenitori mieloidi.

Distribuzione antigenica

L'antigene del CD13 è espresso dai Granulociti e Monociti e dai loro precursori. Varie cellule non ematopoietiche esprimono CD13, incluse le cellule epiteliali dei tubuli prossimali renali e il bordo a spazzola dell'intestino, le cellule endoteliali, I fibroblasti, le cellule del cervello, le cellule stromali del midollo osseo, gli osteoclasti e le cellule del lume del condotto biliare.

Sommario

CD13 è un marcatore per la maggior parte delle Leucemie Acute Mieloidi e per una più piccola proporzione per le Leucemie Acute Linfoidi. L'antigene del CD13 è una metallo protease a legame zinco is che gioca un ruolo nella presentazione dell'antigene di superficie cellulare attraverso il contorno di amino acidi N-terminali dai peptidi di legame MHC Class II. L'attività dell'ectopeptidasi CD13 si è pensato che possa anche regolare le risposte cellulari agli ormoni peptidici attraverso la riduzione della concentrazione locale del peptide disponibile per il legame del recettore.

CD13 è sovraregolata dalla citochina antiinfiammatoria IL-4, che suggerisce un possibile meccanismo indiretto dell'azione di IL-4 attraverso la modulazione di processazione dell'antigene di superficie cellulare e/o dei peptide bioattivi.

CD13 gioca un ruolo negli eventi precoci nell'interazione tra il citomegalovirus umano (CMV) e le cellule bersaglio. Il CMV incorpora la proteina cellulare CD13 nel suo involucro.

Applicazioni

CD13 può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e di midollo osseo o in immunistochimica utilizzando cytopspots o sezioni di tessuto congelato o ELISA. Gli anticorpi CD13 sono utilizzati nel fenotipo delle Leucemie e anche per determinare le cellule mieloidi quando utilizzati insieme agli anticorpi CD33.

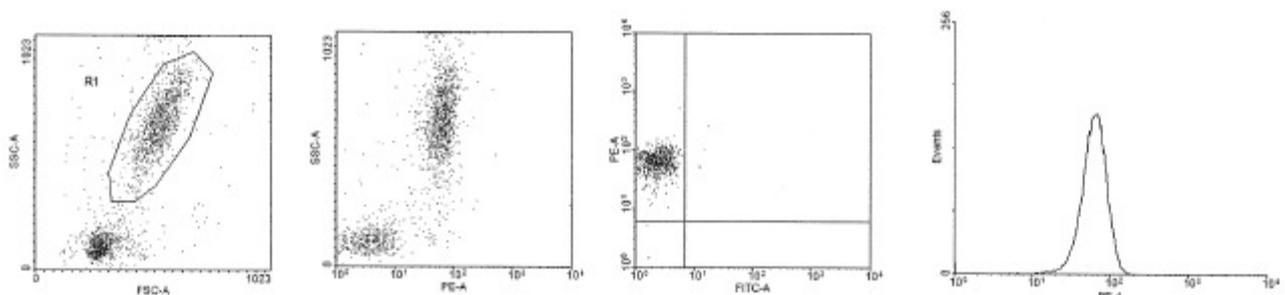
L'anticorpo inibisce l'infezione delle cellule da coronavirus umano e inibisce l'attività della N aminopeptidasi degli immunoprecipitati della molecola del CD13.

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 singola marcatura e 20 µl/10⁶ 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 colorazione con il clone WM15 (CD13) degli anticorpi monoclonali di cellule di sangue normale è illustrata da analisi di citometria a flusso. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl dell'anticorpo coniugato con R-PE con 100 µl di campione di sangue.



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 necessari ma non in dotazione

- 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 10⁶ 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. 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)₂ 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 cio' dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

- B - Metodo di citometria a flusso per anticorpi monoclonali coniugati (FITC, R-PE, CyQ o APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero circa 10⁶ 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 10⁶ 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).

*A campioni di controllo di isotipo Ig di topo 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
Risospendere 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 (NaN₃). 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 EJ, Bradstock KF, Kabral A, Grimsley P, Zowtyj H, Zola H.: Further characterization of human myeloid antigens (gp160,95; gp150; gp67): investigation of epitopic heterogeneity and non-haemopoietic distribution using panels of monoclonal antibodies belonging to CD-11b, CD-13 and CD-33. Br J Haematol. 1988 Jun;69(2):163-71.
2. Favaloro EJ.: CD-13 ('gp150'; aminopeptidase-N): co-expression on endothelial and haemopoietic cells with conservation of functional activity. Immunol Cell Biol. 1991 Aug;69 (Pt 4):253-60.
3. Favaloro EJ, Browning T, Nandurkar H.: The hepatobiliary disease marker serum alanine aminopeptidase predominantly comprises an isoform of the haematological myeloid differentiation antigen and leukaemia marker CD-13/gp150. Clin Chim Acta. 1993 Oct 29;220(1):81-90.
4. Bradstock KF, Favaloro EJ, Kabral A, Kerr A, Hughes WG, Berndt MC, Musgrove E.: Human myeloid differentiation antigens identified by monoclonal antibodies: expression on leukemic cells. Pathology. 1985 Jul;17(3):392-9.
5. Bradstock KF, Favaloro EJ, Kabral A, Kerr A, Hughes WG, Musgrove E.: Myeloid progenitor surface antigen identified by monoclonal antibody. Br J Haematol. 1985 Sep;61(1):11-20.
6. Leucocyte Typing III. McMichael A. J. et al (Eds.), Oxford University Press (1987).
7. Leucocyte Typing IV. Knapp W et al. (Eds.), Oxford University Press (1989).
8. Leucocyte Typing V. Schlossman S. et al. (Eds.), Oxford University Press (1995).
9. Favaloro EJ, Browning T, Facey D.: CD13 (GP150; aminopeptidase-N): predominant functional activity in blood is localized to plasma and is not cell-surface associated. Exp Hematol. 1993 Dec;21(13):1695-701.

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