

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD31

R-PE RUO REF IQP-552R ▾ 100 tests | REF IQP-552R50 ▾ 50 tests

RUO

Solo per Uso Ricerca



Descrizione

Clone MEM-05

Isotipo Mouse IgG1

Specificità L'anticorpo MEM-05 reagisce con CD31 (PECAM-1), una glicoproteina di membrana di Tipo I di 130-140 kDa.

Distribuzione antigenica

CD31 è espresso sui Monociti, Piastrine, Granulociti, Cellule Endoteliali e cellule Staminali della linea mieloide.

Sommario

CD31 è un co-recettore inibitore coinvolto nella regolazione delle cellule T e nel segnale delle cellule B attraverso un doppio immunorecettore basato sulla tirosina inibitoria (ITIM) che associate alla fosforilazione chinasi- mediate fornisce i siti di legame per le fosfatasi proteina-tirosina. CD31 è espresso ubiquitariamente nel compartimento vascolare ed è localizzato principalmente nelle giunzioni tra le cellule adiacenti. N-terminal Ig-como il dominio del CD31 è responsabile per il suo legame omofilo, che gioca un importante ruolo nelle interazioni cellula-cellula. CD31 è una molecola multifunzionale con diversi ruoli nella modulazione dell'adesione cellulare mediate dalle integrine, nella migrazione transendoteliale, nell'angiogenesi, nell'apoptosi, nella regolazione negativa del segnale dell'immunorecettore, nell'autoimmunità, nella fagocitosi dei macrofagi, nell'anafilassi e nella trombosi IgE-mediate. Essa è una delle molecole regolatorie chiave nel sistema vascolare.

Applicazioni Gli anticorpi MEM-05 sono applicati in citometria a flusso per analisi di sangue e midollo osseo.

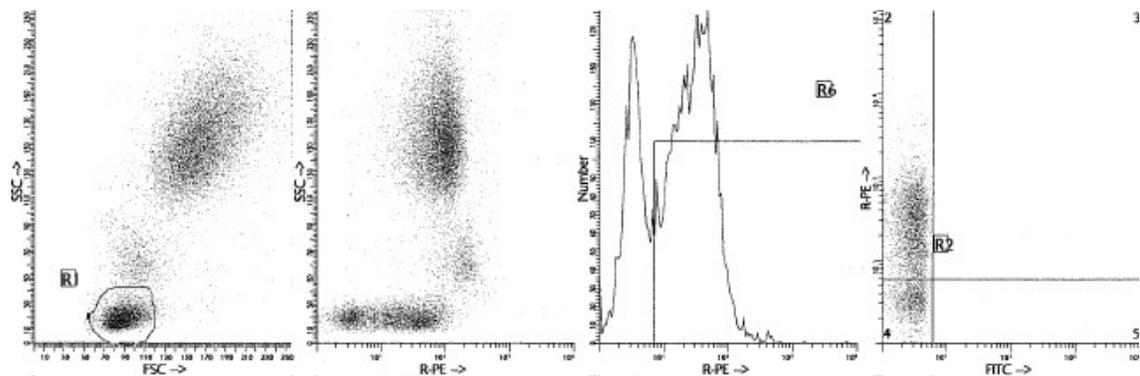
Utilizzo Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazioni dirette di immunofluorescenza di tessuto umano per analisi di citometria a flusso utilizzando 10 µl/10⁶ leucociti per singole marcature e 20 µl/10⁶ leucociti in caso di doppie e triple combinazioni. Se le applicazioni variassero ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere risultati ottimali.

HLDA Workshop

Leukocyte Typing Workshop V

Dati rappresentativi

CD31, clone MEM-05, è stato analizzato in citometria a flusso utilizzando un campione di sangue di un volontario sano umano. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con R-PE e 100 µl di campione di sangue.



Limitazioni

1. I coniugati con fluorocromi più brillanti, quali PE e APC, avranno una separazione più grande di quelli coniugati con FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, la percentuale delle cellule positive usando un marker selezionato può essere influenzata dalla scelta del fluorocromo utilizzato.
2. L'utilizzo di anticorpi monoclonali in pazienti in trattamento, può interferire con il riconoscimento dell'antigene bersaglio a causa di questo reagente. Questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando vengono analizzati campioni di pazienti trattati in terapia con anticorpi monoclonali. 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, quindi è necessario che i laboratori diventino familiari con le caratteristiche di prestazione di ogni anticorpo in relazione con i marcatori combinati in campioni normali e anormali.
4. Il dato della prestazione del reagente è basato su 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 di polistirene con tappo per analisi al citofluorimetro 12 x 75-mm
3. Micropipette con puntali monouso
4. Agitatore Vortex
5. Centrifuga
6. IQ Lyse – soluzione lisante per eritrociti (IQP-199)
7. IQ Starfiqs – soluzione fissativa e permeabilizzante (IQP-200)
8. PBS (tampone fosfato salino)
9. 1% soluzione di paraformaldeide in PBS (conservare a 2-8 °C in vetro ambrato fino ad una settimana)

Colorazione di immunofluorescenza e protocollo di lisi

- A - Metodica citofluorimetrica per l'utilizzo di anticorpi monoclonali purificati

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (per esempio circa 10⁶ leucociti) ad una provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere ad ogni provetta 10 µl di anticorpo monoclonale purificato*. Agitare la provetta con il vortex per una perfetta miscelazione delle cellule e dell'anticorpo.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperature ambiente e al buio.
4. Lavare le cellule marcate aggiungendo 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) Eparina, agitare con il vortex e centrifugare (2 min 1000 x g) e scartare il surnatante.
5. Aggiungere 50 µl di 1:10 diluizione di IQ Products F(ab)₂ Rabbit Anti Mouse IgG coniugato fluorescente, [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] in PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina per la provetta. Si raccomanda che la provetta sia protetta dalla luce.
6. Miscelare con il vortex e incubare per 15 minuti a temperature ambiente e al buio.
7. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
8. Incubare per 10 minuti a temperature ambiente e al buio.
9. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
10. Centrifugare la sospensione di cellule marcate per 2 minuti a 1000 x g.
11. Rimuovere il surnatante e risospesione le cellule in 200 µl di PBS**.
12. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternativa, le cellule dovrebbero essere fissate con 0.05% di formaldeide in tampone salino per analizzarle il giorno successive. Alcuni antigeni sono subito distrutti dopo la fissazione e questo deve essere tenuto in considerazione quando si utilizza questa alternativa).

- B - Metodica citofluorimetrica per l'uso di anticorpi monoclonali coniugati con (FITC, R-PE, Cy-Q or APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (per esempio circa 10⁶ leucociti) nella provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere in ogni provetta 10 µl di anticorpo marcato*. Agitare la provetta con il vortex per assicurare una buona miscelazione di anticorpo e cellule.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperature 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 temperature ambiente e al buio.
6. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
7. Centrifugare la sospensione cellulare marcata per 2 minuti a 1000 x g.
8. Rimuovere il surnatante e risospesione le cellule in 200 µl di PBS**.
9. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternative, le cellule dovrebbero essere fissate con formaldeide allo 0.05% in tampone salino per analizzarle il giorno successivo). Con la fissazione alcuni antigeni vengono subito distrutti e questo fatto dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si usa questa alternativa.

- C - *Metodica citofluorimetrica per l'utilizzo di doppie e triple combinazioni.*

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ad esempio 10⁶ 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 Ig vedi nota applicativa qui sotto.
2. Aggiungere a ogni provetta 20 µl di anticorpi monoclonali combinati*.
3. Agitare con il Vortex la provetta per assicurarsi una perfetta miscelazione delle cellule con gli anticorpi
4. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente al buio.
5. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente al buio.
7. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
8. Centrifugare la sospensione cellulare marcata 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 formaldeide allo 0.05% in tampone salino per analizzare il giorno successivo). Con la fissazione alcuni antigeni vengono subito distrutti e questo fatto dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si usa questa alternativa.

* *Appropriati campioni di mouse Ig isotipo per controllo dovrebbero essere sempre inclusi in ogni studio di marcatura*

** *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 come fiala per 100 test (1 ml) per combinazioni single o fiala per 50 test (1 ml) per combinazioni doppie e triple. Sono forniti in fosfato di sodio 0.01 M, NaCl 0.15 M; pH 7.3, 0.2% BSA, 0.09% sodio azide (NaN₃). Conservare le fiale a 2-8°C. Gli anticorpi monoclonali devono essere protetti dall'esposizione alla luce. I reagenti sono stabili per il periodo indicato in etichetta se conservati correttamente.

Garanzia

La sola garanzia offerta è di conformità per quantità e contenuti indicate sull'etichetta al momento della fornitura. Non vengono concessi altri tipi di garanzia, espresso o non espresso, che esulino dalla descrizione riportata sull'etichetta del prodotto. IQ Products non si ritiene responsabile di eventuali danni alla proprietà, alle persone o alle 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. I 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'utilizzo è consentito solo a personale specializzato.

Referenze

1. Stockinger, H., et al., 1990. J. Immunol., 145 (11): 3889-3897.
2. Simmons, D.L., et al. 1990. J. Exp. Med., 171. 2147-2152
3. Schlossmann et al., eds. 1995. Leucocyte Typing Workshop V. Oxford University Press.

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

IQ Products
bright fluorescence