

## FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

### Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

#### CD146

Pure	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-560P	▼	100 tests
APC	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-560A	▼	100 tests

RUO **Ad esclusivo uso di ricerca**



#### Descrizione

<b>Clone</b>	OJ79c
<b>Isotipo</b>	murino IgG1
<b>Specificità</b>	L'anticorpo (OJ79c) riconosce la glicoproteina di superficie cellulare CD46 da 118kD, anche conosciuta come MUC18, Mel-CAM e S-endo.

#### Distribuzione antigenica

CD146 è espresso sulle cellule endoteliali e mieloma.

#### Sommario

L'espressione del CD146 è determinata sulle cellule endoteliali nel tessuto vascolare ovunque nel corpo ed è associate con la progressione del tumore e lo sviluppo delle metastasi nel melanoma maligno umano. Il membro della superfamiglia delle immunoglobuline è espresso molto più fortemente sulle lesioni metastatiche e sull'avanzata dei tumori primari.

La molecola gioca un ruolo importante nell'adesione cellulare e nella coesione nelle giunzioni intercellulari nei tessuti vascolari. A causa della sua espressione la molecola permette alle cellule del melanoma di interagire con gli elementi cellulari del sistema vascolare, conducendo all'accrescimento della diffusione del tumore ematogeno.

#### Utilizzo

Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazioni di immunofluorescenza diretta di tessuti umani per analisi di citometria a flusso utilizzando 10 µl/10<sup>6</sup> leucociti per colorazioni single e 20 µl/10<sup>6</sup> leucociti in caso di doppie e triple marcature. Se le applicazioni variassero, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere risultati ottimali.

*Questo anticorpo (OJ79a) ha reazioni crociate con il maiale.*

#### Applicazioni

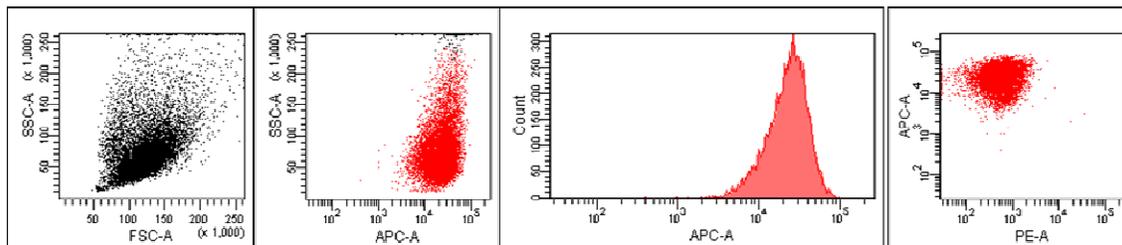
CD146 può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue o in immunocistochemica su sezioni congelate. E' anche stato utilizzato per ELISA. La reattività dell'anticorpo utilizzato in immunocistochemica su sezioni di paraffina è sconosciuta.

#### HLDA Workshop

Leukocyte Typing VI., Kishimoto T. et al. (Eds.), Garland Publishing Inc. (1997).

#### Dati rappresentativi

Sono illustrate analisi in citometria a flusso di cellule endoteliali di vena ombelicale umana (HUVEC) con anticorpi monoclonali colorati con CD146 (OJ79c). Colorazione diretta è stata eseguita utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con APC e 1X10<sup>5</sup> HUVEC.



## Limitazioni

1. I coniugati con fluorocromi più brillanti quali PE e APC, presenteranno una maggiore separazione rispetto ai coniugati con i fluorocromi quali FITC, CyQ e PerCP. 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 richiesti ma non forniti

1. Cellule Endoteliali di Vena Ombelicale Umana (HUVECs)
2. Citometro a flusso
3. Provetta da test con tappo in polistirene monouso 12 x 75 mm per citometro a flusso
4. Micropipetta con puntali monouso
5. Miscelatore a vortice
6. Centrifuga
7. IQ Lyse – soluzione lisante di eritrociti (IQP-199)
8. IQ Starfiqs – soluzione permeabilizzante e fissante (IQP-200)
9. PBS (soluzione salina di tampone fosfato)
10. 1% di soluzione paraformaldeide in PBS (conservare a 2-8 °C in vetro ambrato per un massimo di 1 settimana)

## Colorazione di immunofluorescenza e protocollo di lisi

### -- A - Metodo di citometria a flusso per l'uso con anticorpi monoclonali purificati

1. Aggiungere  $1 \times 10^5$  di cellule endoteliali della vena ombelicale umana (HUVECs) in 100  $\mu$ l di PBS\*\* in una provetta per reagenti da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 10  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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 ciò dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

### - B - Metodo di citometria a flusso per anticorpi monoclonali coniugati (FITC, R-PE, CyQ, PerCP, PerCP-Cy5.5 o APC)

1. Aggiungere  $1 \times 10^5$  di cellule endoteliali della vena ombelicale umana (HUVECs) in 100  $\mu$ l di PBS in una provetta per reagenti da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 10  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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 ciò dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa.

\* *Adeguati campioni di controllo di isotipo saranno sempre inclusi in qualsiasi studio di identificazione*  
\*\* *PBS: soluzione salina di tampone fosfato, 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 per 100 test per fiala (1 ml) per la singola marcatura o 50 tests per fiala I (1 ml) per le doppie e triple combinazioni. Essi sono forniti in 0.01 M di sodiofosfato, 0.15 M 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 lunghe esposizioni alla luce. I reagenti sono stabili per il periodo mostrato sull'etichetta della fiala quando conservati accuratamente.

#### **Garanzia**

I prodotti venduti qui di seguito sono garantiti solo per conformità alla e al contenuto dichiarato sull'etichetta al tempo della spedizione al cliente. Non ci sono garanzie, espresso o implicite, che si estendono oltre la descrizione sull'etichetta del prodotto. IQ Products non è responsabile per danno alla proprietà, ferita 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 alle caratteristiche di un reagente standard. Il dato citofluorimetrico rappresentativo è incluso in questo foglio illustrativo.

#### **Attenzione**

Tutti i prodotti contengono Sodio Azide. Questo prodotto chimico è velenoso e pericoloso. La manipolazione dovrebbe essere fatta solo da personale esperto

#### **Referenze**

1. Kuzu, I. et al. 1993. Lab. Invest. 69: 322-328.
2. Crisan, M. et al. 2008 Cell Stem Cell. 3: 301-13.
3. Park, T.S. et al. 2010 Stem Cells Dev. Oct 5.
4. Leukocyte Typing VI., Kishimoto T. et al. (Eds.), Garland Publishing Inc. (1997).

#### **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](mailto:marketing@iqproducts.nl)  
 📧 Orders [orders@iqproducts.nl](mailto:orders@iqproducts.nl)  
 🌐 [www.iqproducts.nl](http://www.iqproducts.nl)

