

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD8

PURE	RUO	REF	IQP-104P	▼	100 tests				
FITC	IVD	REF	IQP-104F	▼	100 tests	REF	IQP-104F200	▼	200 tests
R-PE	IVD	REF	IQP-104R	▼	100 tests	REF	IQP-104R200	▼	200 tests
CyQ	IVD	REF	IQP-104C	▼	100 tests	REF	IQP-104C200	▼	200 tests
APC	IVD	REF	IQP-104A	▼	100 tests	REF	IQP-104A200	▼	200 tests
PerCP	RUO	REF	IQP-104PC	▼	100 tests	REF	IQP-104PC200	▼	200 tests



Dispositivo medico-diagnostico in vitro
Da usare esclusivamente nella ricerca



Descrizione

Clone MCD8

Isotipo murino IgG1

Specificità La molecola del CD8 è espressa come un etero dimero della glicoproteina del CD8a (32-34 kD) e CD8b (32-34 kD).

Distribuzione dell'antigene

Il CD8 antigene è presente sulla maggior parte dei Timociti, delle cellule T citotossiche soppressorie e su una sottopopolazione delle cellule NK.

Riepilogo

CD8 agisce come un corecettore con il TcR nel riconoscere gli antigeni presentati dal MHC Class I e gioca un ruolo nella risposta immune T cellulo-mediata.

Il CD8 viene comunemente utilizzato nella routine dell'immunofenotipo, nella determinazione della ratio CD4/CD8 ratios nei pazienti HIV/AIDS e nella identificazione delle leucemie a cellule T (common T-ALL or mature T-ALL). Il CD8 distingue anche tra leucemie croniche B e cellule linfoidi T.

Utilizzo

Tutti questi reagenti sono formulati per la colorazione di immunofluorescenza diretta di tessuto umano per analisi in citometria a flusso; utilizzare per singola colorazione 10 µl/10⁶ di leucociti e 20 µl/10⁶ di leucociti nel caso di doppie e triple combinazioni. Se le applicazioni variano, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere il risultato ottimale.

Applicazioni

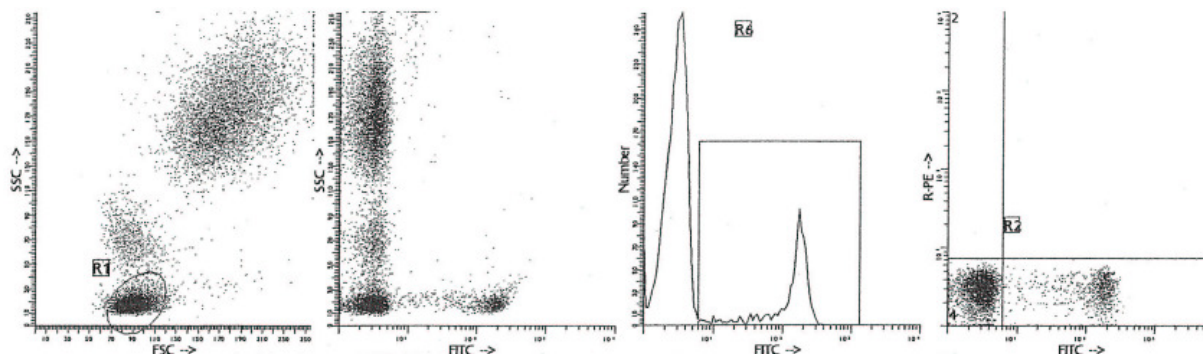
Per citometria a flusso e immunistochemica su sezioni di tessuto congelato e paraffinato.

Workshop HLDA

6th Leukocyte Typing Workshop - Kishimoto T., et al., Eds. Kobe, Japan. Garland Pub. Inc. (1998)

Dati Rappresentativi

Analisi citofluorimetriche sono illustrate qui di seguito utilizzando il clone MCD8 (CD8) su normali cellule del sangue. E' stata fatta una colorazione diretta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con FITC per 100 µl di campione di sangue.



Riproducibilità

Gli Anticorpi Monoclonali IQ Products vengono testati in citometria a flusso utilizzando la metodica 'lyse-wash' su sangue intero di donatori sani.

I dati ottenuti supportano la premessa che questi reagenti sono equivalenti nella loro reattività con i linfociti di sangue periferico. I valori sono espressi in termini di % della conta dei linfociti totali (vedi tabella).

Reagente	n	% media positiva	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD8 FITC	10	26.21	4.55	17.36	IQP-104F
CD8 R-PE	10	31.53	4.58	14.52	IQP-104R
CD8 CyQ	10	33.94	4.76	14.03	IQP-104C
CD8 APC	10	40.51	5.95	14.70	IQP-104A

Limitazioni

- 1 Coniugati con fluorocromi più luminosi quali il PE e l'APC presenteranno una maggiore separazione rispetto a coniugati con altre tinte come il FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, il calcolo della percentuale positiva per un determinato marcatore può essere influenzato dalla scelta del fluorocromo.
- 2 L'uso di anticorpi monoclonali nel trattamento di pazienti può interferire con il riconoscimento degli antigeni bersaglio da parte di questo reagente. Sarà necessario tenerne conto quando vengono analizzati campioni 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 anomali.
- 4 I dati relativi all'attività del reagente si basano su sangue trattato con EDTA. L'attività del reagente può essere influenzata dall'uso di 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 punte 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 ca. 10⁶ leucociti) ad una 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*. Sottoporre la provetta a vortice 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 vortice e centrifuga (2 min 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 a vortice 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 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, APC o PerCP)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10⁶ leucociti) ad una 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 coniugato*. Sottoporre la provetta a vortice 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 ciò 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 ca. 10⁶ leucociti) ad una 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 20 µl di combinazione di anticorpi monoclonali coniugati*.
3. Sottoporre la provetta a vortice 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 ciò dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

* Adeguate campioni di controllo di isotopo 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

Sottoporre a vortice, centrifugare (2 min a 300x g) e rimuovere il surnatante

Ripetere il passaggio due volte

Risospesondere 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) o fiala per 200 test (2 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. Engleman, E.G., Benike, C.J., and Evans, R.L., 1981. Clin. Res., 29: 365A
 2. Evans, R.L., Wall, D.W., Platsoucas, C.D., Siegal, F.P., Fikrig, S.M., Testa, C.M., and Good, R.A. 1981. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 78: 544
 3. Engleman, E.G., Benike, C.J. Glickman, E., and Evans. R.L., 1981, J. Exp. Med., 154: 193
 4. Ledbetter, J.A., Frankel, A.E. Herzenberg, L.A., and Herzenberg, L.A. In: Monoclonal Antibodies and T Cell Hybridomas, Perspectives and Technical Notes 1981, G. Hämmerling, and J. Kearney eds. (Elsevier/North Holland, New York)
 5. Kotzin, B.L., Benike, C.J., and Engleman, E.G.. 1981. J. Immunol., 127: 931
 6. Ledbetter, J.A., Evans, R.L., Lipinski, M., Cunningham-Rundles, C., Good, R.A., and Herzenberg, L.A. 1981. Evolutionary. J. Exp. Med., 153: 310
 7. Kishimoto T., et al., eds. 1998. Leukocyte Typing Workshop VI, Kobe, Japan. Garland Pub. Inc.
-

Legenda dei simboli usati

	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