

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD20

PURE	RUO	REF	IQP-108P		100 tests
FITC	IVD	REF	IQP-108F		100 tests
R-PE	IVD	REF	IQP-108R		100 tests
APC	IVD	REF	IQP-108A		100 tests
PerCP	IVD	REF	IQP-108PC		100 tests



Dispositivo medico-diagnostico in vitro
Da usare esclusivamente nella ricerca



Descrizione

Clone B-ly1

Isotipo Murino IgG1

Specificità CD20 (B-ly1) riconosce l'antigene umano delle cellule B da 33-37 kD.

Distribuzione dell'antigene

CD20 è espresso solo sulla linea delle cellule B ma è assente sulle plasma cellule. Si trova approssimativamente al 10% sui linfociti del sangue periferico e nelle aree ad alta densità di cellule B del tessuto linfoide.

Riepilogo

CD20 è espresso dalle cellule pre-B nel midollo osseo, presumibilmente dopo il riarrangiamento delle catene pesanti Ig, e l'espressione persiste durante tutti gli stadi di maturazione delle cellule B ma viene perso durante la differenziazione terminale a plasma cellule. Esso è espresso dalla maggioranza delle linee cellulari B maligne che includono la metà delle leucemie linfoblastiche acute. Non sono stati identificati ligandi extracellulari per il CD20. Ci sono lavori che il CD20 regola la progressione del ciclo cellulare ed esiste sulla superficie cellulare come omo-oligomeri. L'evidenza suggerisce che il CD20 funzioni come subunità della cellula B del canale del Ca²⁺, sin dall'espressione del CD20 nei vari tipi di cellule genera un tipo simile di attività del canale che si trovano endogenamente nelle cellule B. Si pensa che il CD20 è un componente centrale di un complesso multimerico molecolare che gioca un ruolo regolatorio nell'attivazione, nella proliferazione e differenziazione dei B linfociti.

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

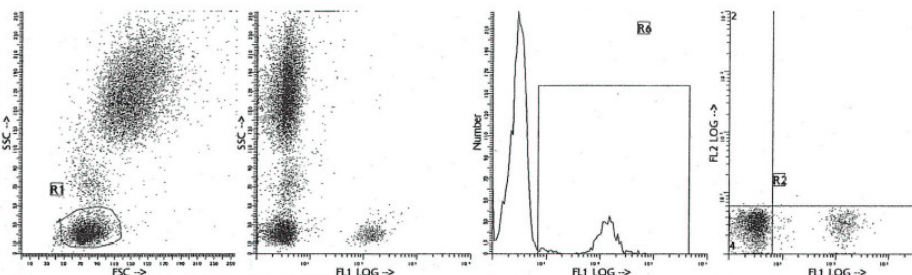
CD20 (B-ly1) può essere utilizzato in citometria a flusso per analisi di campione di sangue e midollo osseo o in immunohistochimica su sezioni di tessuti congelati o inclusi in paraffina. CD20 (B-ly1), è idoneo per uso in immunohistochimica per la colorazione di cellule B in sezioni di tessuto e nella diagnosi di linfomi a cellule B. B-ly1 è utilizzato in citometria a flusso per la valutazione delle cellule B nel sangue periferico e per l'analisi dei linfomi e delle leucemie a cellule B.

Workshop HLDA

4th Leukocyte Typing Workshop - Knapp, W., et al., Oxford University Press, New York (1990)

Dati Rappresentativi

Colorazione con l'anticorpo monoclonale, clone B-ly1 (CD20) è illustrato con un'analisi di citometria a flusso di cellule normali del sangue. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl dell'anticorpo coniugato con FITC e 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	% positiva	media	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD20 FITC	9	10.25		2.25	21.93	IQP-108F
CD20 R-PE	9	9.81		2.37	24.12	IQP-108R
CD20 APC	9	10.98		2.26	20.60	IQP-108A

Limitazioni

1. Coniugati con fluorocromi piu' luminosi quale PE e APC, presenteranno una maggiore separazione rispetto a coniugati con altri fluorocromi come il FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, il calcolo della percentuale positiva per un determinato marcatore puo' essere influenzato dalla scelta del fluorocromo.
2. L'uso di anticorpi monoclonali nel trattamento di pazienti puo' interferire con il riconoscimento degli antigeni bersaglio da parte di questo agente. 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 puo' 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 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 solfato)
9. 1% di soluzione paraformaldeide in PBS (conservare a 2-8 °C in vetro ambrato per un massimo di 1 settimana)

Colorazione immunofluorescenza e protocollo di lisi

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

1. Aggiungere 100µl 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 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 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 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 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 cio' 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 (**preiscaldata a 37 °C**) alla sospensione cellulare.
Sottoporre a vortice, 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 tests (1 ml) o fiale per 50 tests (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, 0.09% 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. Tedder, T.F., and Engel, P., 1994. Immunol today 15. 450-454
 2. Barclay, A., et al. 1997. Leukocyte antigen FactsBook. 181-182
 3. Buben, J.K., et al. 1993. J.Cell Biol. 121. 1121-1132
 4. Kanzaki, M., et al. 1995. J. Biol. Chem. 270. 13099-13104
 5. Poppema, S., and Visser, L., 1987 Biotest Bulletin 3: 131-139
 6. Knapp, W., et al. eds. 1990. Leukocyte Typing Workshop. Oxford University Press
-

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

bright fluorescence

