

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rivelanti antigeni umani

CD22

PURE	RUO	REF	IQP-110P	▽	100 tests
FITC	RUO	REF	IQP-110F	▽	100 tests
R-PE	RUO	REF	IQP-110R	▽	100 tests

RUO *Ad esclusivo uso di ricerca*



Descrizione

Clone B-ly8

Isotipo Murino IgG1

Specificità Clone B-ly8, produce Immunoglobuline IgG di topo dirette contro CD22 umano, peso molecolare 130-140 kD.

Distribuzione antigene

CD22 è determinate nel citoplasma dapprima nello sviluppo delle cellule B (più tardi negli stadi delle cellule pro-B), compare simultaneamente sulla superficie cellulare con superficie IgD, e si trova sulla maggior parte delle cellule mature .L'espressione viene persa con la differenziazione terminale delle cellule B ed è assente sulle plasma cellule. L'attivazione delle cellule B attraverso la superficie Ig incrementa l'espressione del CD22 [1]. Il CD22 reagisce con la maggior parte delle Leucemie a cellule B, incluse la Leucemia a Cellule Capellute (HCL) e i Linfomi a cellule B.

Sommario

Gli anticorpi CD22 sono utilizzati in citometria a flusso e in immunistoichimica come reagenti pan B cellulari, per l'immunofenotipo di Linfomi a cellule B e HCL. Esso è più fortemente espresso sulla Leucemia Prolinfocitica e sulle HCL che nelle Leucemie Linfocitiche Croniche. La linea cellulare B sulle ALL, esprime CD22 sulla membrana e nel citoplasma. CD22 forma un complesso che si stacca con il recettore dell'antigene cellulare BcR (BcR) [2]. Il dominio citoplasmatico è tirosina fosforilata sotto il legame del BCR e si associa attraverso i domini SH2 con la tirosina fosfatasi SHP-1, la tirosina chinasi Syk e fosfolipasi C-g1 [3,4]. CD22 modula verso il basso la soglia di attivazione delle cellule B, presumibilmente attraverso la sua associazione con SHP-1 e altre molecole di segnale [2,3]. Topi che esprimono poco il CD22 mostrano esagerate risposte anticorpali all'antigene e incrementano i livelli di autoanticorpi [1,5]. CD22 può anche mediare l'adesione cellulare attraverso la sua interazione con le molecole della superficie cellulare che portano gli appropriate sialoglico-coniugati, ma solo quando questi coniugati non sono sulle cellule stesse portanti CD22 [2,6].

Applicazioni

L'anticorpo monoclonale CD22, clone B-ly8 può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e di midollo osseo, o in immunistoichimica utilizzando citospot o sezioni di tessuto congelato.

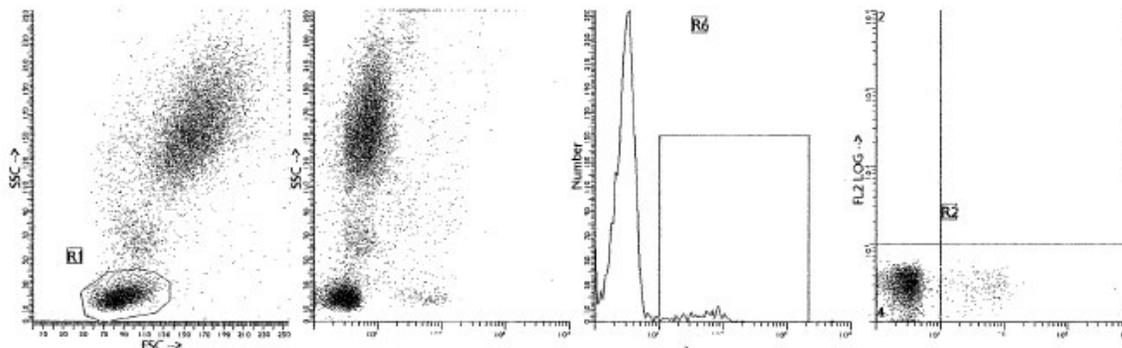
Utilizzo

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

HLDA Workshop

E' identificato nel Leukocyte Antigen FactsBook – Barclay, A.N. et al, Academic Press. London (1997).

Dati rappresentativi



Clone B-ly8 (CD22) è stato analizzato con il citofluorimetro utilizzando un campione di sangue di volontario sano. La colorazione indiretta è stata fatta aggiungendo 10 µl di anticorpo monoclonale purificato a 100 µl di campione di sangue, seguito da anticorpo secondario marcato con FITC.

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 IgGconiugato 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-199pronto 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 risospendere le cellule in 200 µl di PBS**.
 12. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternative,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 risospendere 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 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.

- 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 temperature ambiente al buio.
5. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare per 10 minuti a temperature 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*

A Nota applicative per combinazioni di Ig anti-kappa e/o anti-lambda Ig combinations

Aggiungere 2 ml di PBS contenente 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 (NaN₃). 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 SodioAzide. Questo prodotto chimico è velenoso e pericoloso. La manipolazione dovrebbe essere fatta solo da personale esperto.

Referenze

1. Barclay, A.N., et al. 1997. The Leucocyte Antigen FactsBook. Academic Press. London 186-188
2. Law, C.L., et al. 1994. Immunol. Today 15. 4442-449
3. Doody, G.Mlk et al., 1996. Curr.Opin. Immunol. 8. 378-382
4. Law, C.L., et al. 1996. J. Exp. Med. 183. 547-560
5. O'Keefe, t.L., et al. 1996. Science 274. 798-801
6. Schwartz-Albiez, R., et al 1991. International Immunology 3. 623-633

Legenda dei simboli

	Consultare le Istruzioni per l'uso
REF	Numero di catalogo
	Sufficiente per
IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro
	Attenzione, consultare il documento allegato
	Conservare al riparo dalla luce (solare)
	Rischio biologico
	Limiti di temperatura (°C)
RUO	Ad esclusivo uso di ricerca
LOT	Codice del lotto
	Utilizzare entro aaaa-mm-gg
	Fabbricante
EC REP	Mandatario nella Comunità Europea
CE	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



Products
bright fluorescence