

FICHE TECHNIQUE DU PRODUIT
Anticorps monoclonaux détectant les antigènes humains

CD103

PURE	RUO	REF	IQP-111P	▽	100 tests		REF	IQP-111P50	▽	50 tests
FITC	IVD	REF	IQP-111F	▽	100 tests		REF	IQP-111F50	▽	50 tests
R-PE	RUO	REF	IQP-111R	▽	100 tests		REF	IQP-111R50	▽	50 tests



Dispositif médical de diagnostic in vitro
Pour la recherche uniquement



Description

Clone B-ly7
Isotype murin IgG1
Spécificité B-ly7 comprend une intégrine contenant la sous-unité a qui se dimérise avec la chaîne b7, présente sur les leucémies à tricholeucocytes, pour former l'antigène HML-1 (human mucosal lymphocyte).

Distribution des antigènes

CD103 (B-ly7) est très réactive à la leucémie à tricholeucocytes (HCL), sur les monocytes activés, un sous-ensemble des cellules T et B activées (sous-type de leucémie lymphoïde chronique B), mais pas avec les autres leucémies ou lymphomes B. CD103 est principalement exprimé sur les lymphocytes intra-épithéliaux et sur 1 à 2% des lymphocytes du sang périphérique.

Expression cellulaire: Leucémie à tricholeucocytes (importante), sous-ensemble de cellules T et B activées, monocytes activés.

Résumé

La fonction de l'intégrine CD103 est liée à l'interaction de la cellule T avec l'épithélium et à l'adhésion à la cellule T. CD103 (B-ly7) est fréquemment utilisée pour le diagnostic de la leucémie à tricholeucocytes, comme le CD19 (HD37). HCL est une maladie rare où des cellules HCL peuvent être présentes car la moelle osseuse est infiltrée ou à cause de la circulation de cellules leucémiques dans le sang. L'expression CD103 peut être régulée de façon ascendante par les mitogènes des lymphocytes, tels que l'ester de phorbol.

Utilisation

Tous ces réactifs sont élaborés efficacement pour la coloration par immunofluorescence des tissus humains pour l'analyse cytométrique de flux à l'aide de 10 µL/10⁶ de leucocytes pour les combinaisons simples et de 20 µL/10⁶ de leucocytes pour les combinaisons doubles ou triples. Étant donné que les applications diffèrent, chaque investigateur doit titrer le réactif afin d'obtenir les meilleurs résultats.

Applications

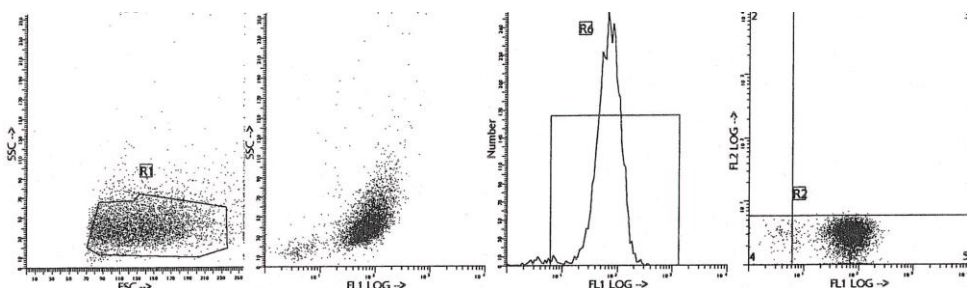
CD103 (B-ly7) peut être appliquée à la cytométrie de flux pour l'analyse des échantillons de sang et de moelle osseuse, ou en immunohistochimie en utilisant les sections de tissu gelées. B-ly7 est un marqueur systématiquement appliqué dans la détection et le suivi des tumeurs malignes des cellules B. La spécificité de la B-ly7 dans le diagnostic de la leucémie à tricholeucocytes peut être améliorée en utilisant des protocoles à double coloration avec les marqueurs des cellules B tels que le CD19 ou le CD22.

Atelier HDLA (antigènes de différenciation des leucocytes humains)

5^e atelier sur les antigènes des leucocytes. Boston, États-Unis (1993).

Données représentatives

La coloration avec les anticorps monoclonaux B-ly7 (CD103) est accompagnée de l'analyse cytométrique de flux utilisant une suspension de cellule splénique d'un patient HCL. La coloration directe a été réalisée en utilisant 10 µl d'anticorps FITC conjugué (isomère 1 de fluorescéine isothiocyanate) et 100 µl de suspension de cellule splénique.



Reproductibilité

Les anticorps monoclonaux de IQ Products ont été testés par la cytométrie de flux avec la méthode de lyse-lavage sur une cellule en suspension contenant les cellules HCL. Les données obtenues soutiennent les prémisses que ces réactifs ont une réactivité équivalente aux cellules HCL. Les valeurs sont exprimées en % du total de la numérotation cellulaire (voir le tableau).

Réactif	Moyenne % positif	S.D.	% CV	Code du produit
CD103 FITC	91,30	3,30	3,61	IQP-111F

Limitations

- 1 Les conjugués avec des fluorochromes plus brillants, tel que le PE et l'APC, permettront d'obtenir une séparation plus importante que des teintures telles que le FITC et le CyQ. Lorsque les populations ont un caractère commun, le pourcentage de cellules positives peut être affecté par le choix du marqueur fluorescent
- 2 L'utilisation des anticorps monoclonaux dans le traitement des patients peut interférer avec la reconnaissance de l'antigène cible par ce réactif. Ce phénomène doit être pris en compte lors de l'analyse des échantillons provenant de patients traités de cette manière. IQ Products n'a pas caractérisé l'effet de la présence d'anticorps thérapeutiques sur la performance de ce réactif.
- 3 Les réactifs peuvent être utilisés sous plusieurs combinaisons, les laboratoires doivent donc se familiariser avec les caractéristiques de performance de chaque anticorps en relation avec les marqueurs combinés sur les échantillons normaux et anormaux.
- 4 Les données de performance du réactif sont basées sur du sang traité à l'EDTA. La performance du réactif peut être affectée par l'utilisation d'autres anticoagulants.

Réactifs et matériel nécessaire mais non fournis [®]

- 1 Cytomètre de flux
- 2 Tubes à essais bouchés en polystyrène jetables 12 x 75 mm pour cytomètre de flux
- 3 Micropipette à pointes jetables
- 4 Agitateur vortex
- 5 Centrifugeuse
- 6 Lyse IQ – solution de lyse des érythrocytes (IQP-199)
- 7 IQ Starfiqs – solution de fixation et de perméabilisation (IQP-200)
- 8 PBS (Solution saline tamponnée au phosphate)
- 9 Solution de 1% de paraformaldéhyde dans le PBS (conserver à une température de 2 à 8 °C dans un verre brun jusqu'à une semaine)

Protocole de lyse et de coloration par immunofluorescence

- A - Méthode de cytométrie de flux pour une utilisation avec des anticorps monoclonaux purifiés

1. Ajouter 100 µl de sang traité à l'EDTA (environ 10⁶ de leucocytes) dans un tube contenant 5 ml de réactif. Le contenu d'un tube permet de réaliser un test.
2. Ajouter 10 µl d'anticorps monoclonal purifié* dans chaque tube. Agiter le tube au vortex pour correctement mélanger l'anticorps et les cellules.
3. Laisser incuber le tube pendant 15 minutes à température ambiante et dans l'obscurité.
4. Laver les cellules marquées en ajoutant 2 ml de PBS contenant 0,001% (v/v) d'héparine, agiter au vortex et centrifuger (2 min 1000 x g.) puis jeter le surnageant.
5. Ajouter 50 µl d'une dilution à 1:10 de l'IQ Products F(ab)₂, le conjugué fluorescent de lapin anti-IgG [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] au PBS contenant 0,001% (v/v) d'héparine dans le tube. Veiller à protéger le tube de la lumière.
6. Mélanger en agitant dans le vortex puis laisser incuber pendant 15 minutes à température ambiante et dans l'obscurité.
7. Ajouter 100 µl de lyse IQ (IQP-199 prêt à l'emploi) et mélanger immédiatement.
8. Laisser incuber pendant 10 minutes à température ambiante et dans l'obscurité.
9. Ajouter 2 ml d'eau déminéralisée puis laisser incuber pendant 10 minutes dans l'obscurité.
10. Centrifuger la cellule en suspension marquée pendant 2 minutes à 1000 x g.
11. Jeter le surnageant puis remettre les cellules en suspension dans 200 µl de PBS.**
12. Analyser par cytométrie de flux dans les quatre heures (si l'analyse est réalisée le jour suivant, les cellules peuvent être fixées par 0,05% de formaline dans la saline tamponnée. Certains antigènes sont facilement détruits lors de la fixation et ce phénomène doit être pris en compte si cette solution est envisagée).

- B - Méthode de cytométrie de flux pour une utilisation avec des anticorps monoclonaux marqués (FITC, R-PE, CyQ ou APC)

1. Ajouter 100 µl de sang traité à l'ETDA (environ 10^6 de leucocytes) dans un tube contenant 5 ml de réactif. Le contenu d'un tube permet de réaliser un test.
2. Ajouter 10 µl d'anticorps monoclonal marqué* dans chaque tube. Agiter le tube au vortex pour correctement mélanger l'anticorps et les cellules.
3. Laisser incuber le tube pendant 15 minutes à température ambiante et dans l'obscurité.
4. Ajouter 100 µl de lyse IQ (IQP-199 prêt à l'emploi) et mélanger immédiatement.
5. Laisser incuber pendant 10 minutes à température ambiante et dans l'obscurité.
6. Ajouter 2 ml d'eau déminéralisée puis laisser incuber pendant 10 minutes dans l'obscurité.
7. Centrifuger la cellule en suspension marquée pendant 2 minutes à 1000 x g.
8. Jeter le surnageant puis remettre les cellules en suspension dans 200 µl de PBS.**
9. Analyser par cytométrie de flux dans les quatre heures (si l'analyse est réalisée le jour suivant, les cellules peuvent être fixées par 0,05% de formaline dans la saline tamponnée. Certains antigènes sont facilement détruits lors de la fixation et ce phénomène doit être pris en compte si cette solution est envisagée).

- C - Méthode de cytométrie de flux pour une utilisation avec des combinaisons doubles ou triples

1. Ajouter 100 µl de sang traité à l'ETDA (environ 10^6 de leucocytes) dans un tube contenant 5 ml de réactif. Le contenu d'un tube permet de réaliser un test.
Voir ci-dessous pour les combinaisons avec des réactifs anti-kappa et/ou anti-lambda Ig
2. Ajouter 20 µl de combinaison d'anticorps monoclonal marqué* dans chaque tube.
3. Agiter le tube au vortex pour correctement mélanger l'anticorps et les cellules.
4. Laisser incuber le tube pendant 15 minutes à température ambiante et dans l'obscurité.
5. Ajouter 100 µl de lyse IQ (IQP-199 prêt à l'emploi) et mélanger immédiatement.
6. Laisser incuber pendant 10 minutes à température ambiante et dans l'obscurité.
7. Ajouter 2 ml d'eau déminéralisée puis laisser incuber pendant 10 minutes dans l'obscurité.
8. Centrifuger la cellule en suspension marquée pendant 2 minutes à 1000 x g.
9. Jeter le surnageant puis remettre les cellules en suspension dans 200 µl de PBS.**
10. Analyser par cytométrie de flux dans les quatre heures (si l'analyse est réalisée le jour suivant, les cellules peuvent être fixées par 0,05% de formaline dans la saline tamponnée. Certains antigènes sont facilement détruits lors de la fixation et ce phénomène doit être pris en compte si cette solution est envisagée)

*Des échantillons de contrôle de l'isotype anti-Ig appropriés doivent toujours être inclus dans une étude de marquage

** PBS : Solution saline tamponnée aux phosphates, pH 7.2

Documentation technique pour les combinaisons anti-kappa et/ou anti-lambda Ig

Ajouter 2 ml de PBS contenant 0,001% (v/v) d'héparine (**préchauffée à 37 °C**) à la suspension de cellule
Agiter au vortex, centrifuger (2 min à 300x g) et jeter le surnageant
Répéter deux fois cette opération
Resuspendre les cellules sanguines agglomérées dans 100 µl de PBS contenant 0,001% (v/v) d'héparine



Manipulation et conservation

Les anticorps sont livrés en flacon de 100 tests (1 mL) pour les combinaisons simples ou en flacon de 50 tests (1 mL) pour les combinaisons doubles ou triples. Ils sont livrés dans 0,01 M de phosphate trisodique, 0,15 M de NaCl ; pH 7,3, 0,2% SAB, 0,09% de sodiazide (NaN_3). Stocker les flacons entre 2 et 8 °C. Les anticorps monoclonaux doivent être protégés d'une exposition prolongée à la lumière. S'ils sont stockés de façon appropriée, les réactifs restent stables pour la période indiquée sur l'étiquette du flacon.

Garantie Les produits vendus sont garantis afin d'obéir à la quantité et aux contenus indiqués sur l'étiquette au moment de la livraison au client. Aucune garantie, explicite ou implicite, ne s'étend au-delà de la description de l'étiquette du produit. IQ Products ne peut être tenu responsable des dommages, des blessures ou des pertes économiques provoqués par le produit.

Caractérisation

Afin d'assurer la constante qualité supérieure des réactifs, chaque lot d'anticorps monoclonal est testé afin de vérifier sa conformité aux caractéristiques d'un réactif standard. Les données cytométriques représentatives sont incluses dans la présente fiche technique.

Avertissement

Tous les produits contiennent du sodiazide. Ce produit chimique est toxique et dangereux. Sa manipulation est réservée au seul personnel formé.

Explanation of used symbols

	Consulter les instructions d'utilisation
	Référence du catalogue
	Suffisant pour
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Attention voir notice d'instructions
	Ne pas exposer aux rayons (solaires)
	Risques biologiques
	Limites de température (°C)
	Pour la recherche uniquement
	Code du lot
	Utiliser jusque
	Fabricant
	Mandataire dans la Communauté européenne
	Conformité Européenne
	Représentant autorisé pour la Suisse

		Label - tandem purified material	Ex -max (nm)	Em -max (nm)
P	PURE		-	-
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

Références

1. Poppema, S. et Visser, L., 1990. Blood, 75: 320-321
2. Visser, L. et Poppema, S., 1990. Br. J. Haematol., 75: 359-365
3. Mulligan, S.P. et al., 1990. Blood, 76: 959-964
4. Visser, L. et al. 1992. Hematol. Pathol., 6: 37-42
5. Micklem, K.J. et al.. 1991. American Journal of Pathology, 139: 1297-130,
6. Poppema, S. et Visser, L., 1987, Biotest Bulletin, 3: 131-139
7. Visser, L. et al. 1989. Blood, 74: 320-325
8. Poppema, S. et al., 1989, 132-134, Leukocyte Typing IV, Knapp, W., ed., Oxford University Press
9. Juliusson, G. et al.. 1994. Blood, 83: 3672-3681
10. Robbins, B.A. et al., 1993. Blood, 82: 1277-1287
11. Pinto, A. et al. 1994. A comprehensive review based on the 5th International Workshop on Leukocyte differentiation antigens. Boston, USA, 3-7 November, 1993., 8: 347-358



IQ Products BV
Rozenburglaan 13a
9727 DL Groningen
Pays-Bas



Casus Switzerland GmbH
Hinterbergstrasse 49
Steinhausen, 6312, Switzerland

 +31 (0)50 57 57 000
 +31 (0)50 57 57 002
 Service technique marketing@iqproducts.nl
 Commandes orders@iqproducts.nl
 www.iqproducts.nl

