

PRODUKTINFORMATIONSBLETT
 Monoklonale Antikörper erkennen menschliche Antigene

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

IVD RUO **CE** *In Vitro Diagnostikum*
Nur für Forschungszwecke



Beschreibung

Klon B-ly7
Isotyp Murine IgG1
Spezifität B-ly7 erkennt ein Integrin, das die αE-Untereinheit enthält, die mit der β7-Kette dimerisiert, vorhanden auf Haarzell-Leukämiezellen, um das HML-1-Antigen (Human Mucosal Lymphocyte) zu bilden.

Antigen-Verteilung

CD103 (B-ly7) ist sehr reaktiv bei Haarzell-Leukämie (HZL), aktivierten Monozyten, einer Subpopulation aktivierter T- und B-Zellen (Subtyp von chronischen, lymphozytischen B-Leukämiezellen), nicht aber mit anderen lymphatischen B-Leukämiezellen. CD103 wird primär auf intraepithelialen Lymphozyten und auf 1-2%igen peripheren Blutlymphozyten zellulär ausgedrückt: Haarzell-Leukämie (stark), Subpopulationen aktivierter T- und B-Zellen, aktivierte Monozyten.

Zusammenfassung

Die Funktion des CD103-Integrins betrifft die T-Zellen-Interaktion mit Zellgewebe und die T-Zellen-Adhäsion. CD103 (B-ly7) wird häufig für die Diagnose von HZL verwendet, zusammen mit CD19 (HD37). HZL ist eine seltene Funktionsstörung und HZL-Zellen können als Knochenmarkinfiltrat oder als zirkulierende Leukämiezellen im Blut vorhanden sein. Die CD103-Expression kann durch Lymphozyten-Mitogene, wie Phorbol ester, reguliert werden.

Verwendung

Alle Reagenzien eignen sich für die direkte durchflusszytometrische Anwendung an menschlichem Gewebe bei Verwendung von 10 µl/10⁶ Leukozyten bei Einfachfärbungen und 20 µl/10⁶ Leukozyten bei Doppelt- bzw. Dreifachfärbungen. Da der Gebrauch variiert, sollte jeder Anwender das Reagenz titrieren um optimale Ergebnisse zu erzielen.

Anwendungen

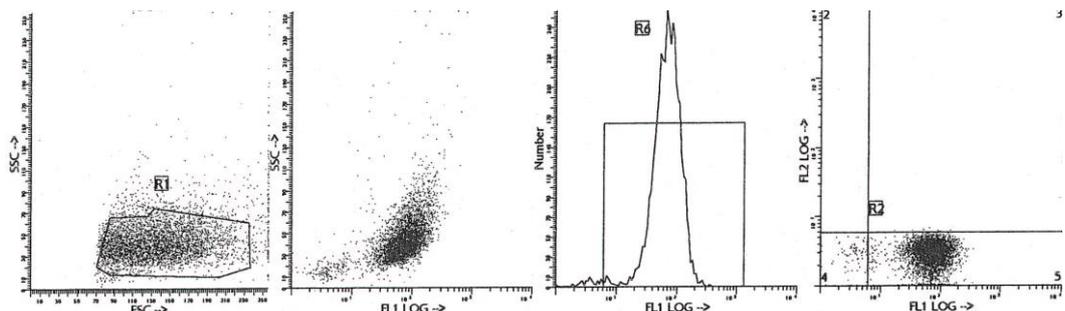
CD103 (B-ly7) kann in der Fluss-Cytometrie zur Blutanalyse und für Knochenmarksproben oder in der Immunhistochemie mit gefrorenem Gewebe angewendet werden. B-ly7 ist ein routinemäßig angewendeter Marker zur Erkennung und Verfolgung von bösartigen B-Zelltumoren. Die Spezifität von B-ly7 für die Diagnose von HCL kann durch die Verwendung von doppelten Färbungsprotokollen mit B-Zellenmarkern wie CD19 oder CD22 erweitert werden.

HLDA-Workshop

5. Leukozyten-Antigen-Workshop. Boston, USA (1993)

Repräsentative Daten

Eine durchflusszytometrische Färbung mit Klon B-ly7 (CD103) monoklonalen Antikörpern ist dargestellt unter Verwendung einer Milzzellsuspension eines HZL-Patienten illustriert. Die direkte Färbung wurde mit 10 µl FITC-konjugiertem Antikörper und 100 µl Milzzellsuspension durchgeführt.



Reproduzierbarkeit

Monoklonale Antikörper von IQ Products wurden Durchflusszytometrisch unter Verwendung einer „Lyse/Wash“-Methode an einer Zellsuspension mit HZL-Zellen getestet. Die erhaltenen Daten unterstützen die These, dass diese Reagenzien äquivalent sind in ihrer Reaktivität diesen HZL-Zellen. Die Werte werden in Prozenten (%) bezogen auf die Gesamtzellzahl ausgedrückt (siehe Tabelle).

Reagenz	Mittlere % positiv	S.D.	% CV	Produktcode
CD103 FITC	91,30	3,30	3,61	IQP-111F

Limitierungen

- 1 Konjugate mit helleren Fluorochromen wie PE oder APC werden eine größere Separation aufweisen als Konjugate mit Farben wie FITC oder CyQ. Wenn Populationen überlappen, kann der prozentuale Anteil positiver Zellen bezogen auf einen bestimmten Marker durch die Wahl des verwendeten Fluorochroms beeinflusst werden.
- 2 Die Verwendung monoklonaler Antikörper bei der Behandlung von Patienten kann die Antigenerkennung durch das Reagenz behindern. Dies sollte bei der Probenanalyse solcherart behandelter Patienten in Betracht gezogen werden. IQ Products hat den Effekt therapeutischer Antikörper auf die Leistung dieses Reagenz nicht charakterisiert.
- 3 Reagenzien können in verschiedenen Kombinationen verwendet werden, deswegen müssen sich Laboratorien mit den Leistungsdaten jedes Antiköpers in Verbindung mit anderen Markern bei normalen und abnormalen Proben vertraut machen.
- 4 Hier präsentierte Ergebnisse wurden mit EDTA-Blut erzielt. Ergebnisse können durch den Gebrauch anderer Koagulanzen beeinflusst werden.

Erforderliche aber nicht bereit gestellte Reagenzien und Materialien

- 1 Durchflußzytometer
- 2 Für durchflußzytometrische Messungen geeignete verschließbare 12 x 75-mm Polystyrolröhren
- 3 Mikropipetten mit Einwegspitzen
- 4 Vortex Mixer
- 5 Zentrifuge
- 6 IQ Lyse – Erythrozytenlysereagenz (IQP-199)
- 7 IQ Starfiqs – Fixierungs- und Permeabilisierungsreagenz (IQP-200)
- 8 PBS (phosphatgepufferte Saline)
- 9 1% Paraformaldehydlösung in PBS (Aufbewahrung bei 2-8 °C in Braunglas für bis zu 1 Woche)

Immunfluoreszenzfärbung und Lysing-Protokoll

- A - Durchflußzytometrische Methode bei Verwendung unkonjugierter monoklonaler Antikörper

1. 100 µl EDTA-behandeltes Blut (ca.10⁶ Leukozyten) in ein 5 ml Reagenzgefäß überführen. Der Inhalt eines Röhrchens ist ausreichend für einen Test.
2. In jedes Röhrchen 10 µl unkonjugierten Antikörper geben*. Das Röhrchen vortexen, um eine gute Durchmischung von Zellen und Antikörpern zu garantieren.
3. Für 15 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubieren.
4. Die gefärbten Zellen waschen, indem 2 ml PBS mit 0.001% (v/v) Heparin zugefügt werden. Anschließend die Suspension vortexen, zentrifugieren (2 Minuten 1000 x g) und den Überstand verwerfen.
5. 50 µl 1:10 in PBS mit 0.001% (v/v) Heparin verdünntes IQ Products F(ab)₂ Rabbit Anti Mouse IgG Fluoreszenzkonjugat [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] hinzugeben. Es wird empfohlen, das Röhrchen vor Licht zu schützen.
6. Durch Vortexen mischen und für 15 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubieren.
7. 100 µl IQ Lyse (IQP-199 *ready-to-use*) zugeben und sofort durchmischen.
8. Für 10 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubieren.
9. 2 ml demineralisiertes Wasser zugeben und für 10 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubieren.
10. Die gefärbte Zellsuspension für 2 Minuten bei 1000 x g zentrifugieren.
11. Überstand verwerfen und die Zellen in 200 µl PBS** resuspendieren.
12. Die durchflußzytometrische Analyse innerhalb von vier Stunden durchführen (alternativ können die Zellen mit 0.05% Formalin in gepufferter Saline für eine Analyse am folgenden Tag fixiert werden. Es sollte jedoch hierbei in Betracht gezogen werden, dass einige Antigene leicht durch Fixierung zerstört werden können).

- B - Durchflußzytometrische Methode bei Verwendung konjugierter (FITC, R-PE, CyQ oder APC) monoklonaler Antikörper

1. 100 µl EDTA-behandeltes Blut (ca.10⁶ Leukozyten) in ein 5 ml Reagenzgefäß überführen. Der Inhalt eines Röhrchens ist ausreichend für einen Test.
2. In jedes Röhrchen 10 µl konjugierten monoklonalen Antikörper geben*. Das Röhrchen vortexen, um eine gute Durchmischung von Zellen und Antikörper zu garantieren.
3. Für 15 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubieren.
4. 100 µl IQ Lyse (IQP-199 *ready-to-use*) zugeben und sofort durchmischen.
5. Für 10 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubieren.
6. 2 ml demineralisiertes Wasser zugeben und für 10 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubieren.
7. Die gefärbte Zellsuspension für 2 Minuten bei 1000 x g zentrifugieren.
8. Überstand verwerfen und die Zellen in 200 µl PBS** resuspendieren.
9. Die durchflußzytometrische Analyse innerhalb von vier Stunden durchführen (alternativ können die Zellen mit 0.05% Formalin in gepufferter Saline für eine Analyse am folgenden Tag fixiert werden. Es sollte jedoch hierbei in Betracht gezogen werden, dass einige Antigene leicht durch Fixierung zerstört werden können).

- C - Durchflußzytometrische Methode bei Verwendung von Zweifach- und Dreifachkombinationen

1. 100 µl EDTA-behandeltes Blut (ca.10⁶ Leukozyten) in ein 5 ml Reagenzgefäß überführen. Der Inhalt eines Röhrchens ist ausreichend für einen Test.
Bei Kombinationen mit anti-kappa und/oder anti-lambda Ig siehe Anwendungshinweis unten
2. In jedes Röhrchen 20 µl konjugierten monoklonalen Antikörper geben*.
3. Das Röhrchen vortexen, um eine gute Durchmischung von Zellen und Antikörper zu garantieren.
4. Für 15 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubieren.
5. 100 µl IQ Lyse (IQP-199 *ready-to-use*) zugeben und sofort durchmischen.
6. Für 10 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubieren.
7. 2 ml demineralisiertes Wasser zugeben und für 10 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubieren.
8. Die gefärbte Zellsuspension für 2 Minuten bei 1000 x g zentrifugieren.
9. Überstand verwerfen und die Zellen in 200 µl PBS** resuspendieren.
10. Die durchflußzytometrische Analyse innerhalb von vier Stunden durchführen (alternativ können die Zellen mit 0.05% Formalin in gepufferter Saline für eine Analyse am folgenden Tag fixiert werden. Es sollte jedoch hierbei in Betracht gezogen werden, dass einige Antigene leicht durch Fixierung zerstört werden können).

* Geeignete „Mouse Ig Isotype“-Kontrollproben sollten immer bei jeder Markierungsstudie vorhanden sein

** PBS: Phosphate Buffered Saline (Phosphat gepuffte Kochsalzlösung), pH 7.2

Anwendungshinweis für Anti-Kappa und/oder Anti-Lambda-IG-Kombinationen

2 ml PBS mit 0.001% (v/v) Heparin (**auf 37 °C vorgewärmt**) zur Zellsuspension hinzugeben
Vortexen, zentrifugieren (2 min bei 300x g) und den Überstand verwerfen. Diesen Schritt zwei Mal wiederholen.

Pellet in 100µl PBS mit 0.001 % (v/v) Heparin resuspendieren.



Handhabung und Lagerung

Antikörper werden entweder mit 100 Tests pro Ampulle (1 ml) für einfache oder 50 Tests pro Ampulle (1 ml) für doppelte und dreifache Kombinationen geliefert. Sie werden in 0,01 M Natriumphosphat, 0,15 M NaCl; pH 7,3, 0,2% BSA, 0,09% Natriumazid (NaN₃) geliefert. Ampullen bei 2-8 °C lagern. Monoklonale Antikörper sollten vor längerer Lichteinstrahlung geschützt werden. Reagenzien sind bei richtiger Lagerung im auf der Ampulle angezeigten Zeitraum stabil.

Garantie

Für die verkauften Produkte gilt nur eine Garantie für die Menge und Inhalte, die auf der Ampulle, zum Lieferzeitpunkt an den Kunden, angegeben sind. Es gibt keinerlei Garantien, ausgedrückt oder impliziert, die über die Produktbeschriftung hinausgehen. IQ Products ist nicht für Sachschäden, Personenschäden oder wirtschaftliche Verluste verantwortlich, die durch das Produkt entstanden sind.

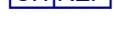
Beschreibung

Um die gleichbleibende hohe Qualität der Reagenzien zu bewahren, wird jede Lieferung von monoklonalen Antikörpern in Übereinstimmung mit den Charakteristika einer Standardreagenz getestet. Repräsentative Fluss-Cytometriedaten sind auf diesen Datenblatt enthalten.

Warnung

Alle Produkte enthalten Natriumazid. Dieser chemische Stoff ist giftig und gefährlich. Er sollte ausschließlich von geschultem Personal verwendet werden.

Explanation of used symbols

	Gebrauchsanweisung beachten
	Bestellnummer
	Ausreichend für
	In Vitro Diagnostikum
	Achtung, Begleitdokumente beachten
	Vor (Sonnen)licht schützen
	Biologische Gefahr
	Zulässiger Temperaturbereich (°C)
	Nur für Forschungszwecke
	Chargenbezeichnung
	Verwendbar bis
	Hersteller
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Conformité Européenne (Europäische Konformität)
	Bevollmächtigter Vertreter für die Schweiz

		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

Referenzen

1. Poppema, S. und Visser, L., 1990. Blood, 75: 320-321
2. Visser, L. und 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. und 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. Eine vergleichende Bewertung auf der Grundlage des 5. Internationalen Workshops zu Leukozytendifferenzierungsantigenen. Boston, USA, 3. -7. November 1993., 8: 347-358



IQ Products BV
Rozenburglaan 13a
9727 DL Groningen
Niederlande



Casus Switzerland GmbH
Hinterbergstrasse 49
Steinhausen, 6312, Switzerland

 +31 (0)50 57 57 000
 +31 (0)50 57 57 002
 Technisch marketing@iqproducts.nl
 Bestellungen orders@iqproducts.nl
 www.iqproducts.nl

