

## FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

### Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

#### CD103

PURE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-111P	▽	100 tests	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-111P50	▽	50 tests
FITC	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-111F	▽	100 tests	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-111F50	▽	50 tests
R-PE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-111R	▽	100 tests	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-111R50	▽	50 tests



**Dispositivo medico-diagnostico in vitro**  
**Ad esclusivo uso di ricerca**



#### Descrizione

**Clone** B-ly7

**Isotipo** murino IgG1

**Specificità** B-ly7 riconosce un'integrina contenente la subunità che dimerizza con la catena b7, presente sulle cellule della leucemia a cellule capellute, per formare l'antigene HML-1 (human mucosal lymphocyte).

#### Distribuzione dell'antigene

CD103 (B-ly7) è fortemente reattivo con le cellule della leucemia a cellule capellute (HCL), con i monociti attivati, con il subset delle cellule B e T attivate (sottotipo delle cellule B nelle leucemie linfocitiche croniche), ma non con altre leucemie o linfomi a cellule B. CD103 è espresso principalmente sui linfociti intra-epiteliali e sull'1-2% dei linfociti del sangue periferico.

#### Riepilogo

La funzione del CD103 integrina è correlata all'interazione delle cellule T con l'epitelio e alle cellule d'adesione.

CD103 (B-ly7) è frequentemente utilizzato per la diagnosi di HCL insieme al CD19 (HD37). HCL è un raro disordine e le cellule HCL potrebbero essere presenti come infiltrati del midollo osseo o come cellule leucemiche circolanti nel sangue. L'espressione del CD103 può essere sovraregolata da linfociti mitogeni, come gli esteri del forbole.

#### Applicazioni

CD103 (B-ly7) può essere utilizzato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e midollo osseo, o in immunistochemica utilizzando sezioni di tessuto congelato. B-ly7 è un marcatore che viene utilizzato di routine per la determinazione ed follow-up di cellule B maligne. La specificità del B-ly7 per la diagnosi di HCL può essere aumentata utilizzando il protocollo di doppia colorazione con marcatori di cellule B quali CD19 o CD22.

#### Utilizzo

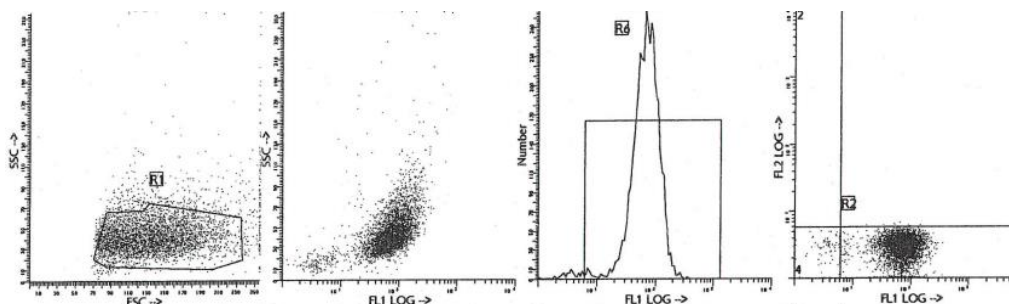
Tutti questi reagenti sono formulati per la colorazione di immunofluorescenza diretta di tessuto umano per analisi in citometria a flusso: utilizzare per singola colorazione 10 µl/10<sup>6</sup> di leucociti e 20 µl/10<sup>6</sup> di leucociti nel caso di doppie o triple combinazioni. Nel caso le applicazioni variassero, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere il risultato ottimale.

#### Workshop HLDA

5<sup>th</sup> Leukocyte Antigen Workshop. Boston, USA (1993)

#### Dati Rappresentativi

Analisi di citometria a flusso sono qui di seguito colorando con gli anticorpi monoclonali clone B-ly7 (CD103) una sospensione di cellule di milza da paziente con HCL. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con FITC e 100 µl di sospensione di cellule di milza.



## Riproducibilità

Gli anticorpi monoclonali prodotti da 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	% media positiva	S.D.	% CV	Codice Prodotto
CD103 FITC	91,30	3,30	3,61	IQP-111F

## Limitazioni

- 1 I coniugati con fluorocromi più brillanti quali PE e APC, presenteranno una maggiore separazione rispetto ai coniugati con i fluorocromi quali FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, il calcolo della percentuale delle cellule positive per un determinato marcatore può essere influenzato dalla scelta del fluorocromo.
- 2 L'utilizzo di anticorpi monoclonali nel trattamento di pazienti può interferire con il riconoscimento degli antigeni bersaglio da parte di questo reagente. Questo dovrebbe essere preso in considerazione quando i campioni analizzati sono 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 anormali.
- 4 I dati relativi all'attività del reagente si basano su sangue trattato con EDTA. L'attività del reagente può essere influenzata se vengono utilizzati 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 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 circa 10<sup>6</sup> leucociti) ad un 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\*. Agitare la provetta con il Vortex 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 Vortex e centrifugare per 2 min a 1000 x g. ed eliminare il surnatante.
5. Aggiungere alla provetta 50 µl di diluizione 1:10 di IQ Products F(ab)<sub>2</sub> 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 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 o APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero circa 10<sup>6</sup> leucociti) ad un 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\*. Agitare la provetta con il Vortex 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 circa 10<sup>6</sup> leucociti) ad un 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 10 µl di anticorpo monoclonale purificato\*.
3. Agitare la provetta con il Vortex 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).

\*A campioni di controllo di isotipo 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.

Agitare con Vortex, centrifugare (2 min a 300x g) e rimuovere il surnatante

Ripetere il passaggio 2 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) 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 (NaN<sub>3</sub>). 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. Poppema, S. and Visser, L., 1990. Blood, 75: 320-321
  2. Visser, L. and 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. and 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
- 

### Legenda dei simboli

	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)
	Rappresentante autorizzato per la Svizzera

		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



IQ Products BV  
Rozenburglaan 13a  
9727 DL Groningen, The Netherlands



Casus Switzerland GmbH  
Hinterbergstrasse 49  
Steinhausen, 6312, Switzerland

 +31 (0)50 57 57 000  
 +31 (0)50 57 57 002  
 Technical [marketing@iqproducts.nl](mailto:marketing@iqproducts.nl)  
 Orders [orders@iqproducts.nl](mailto:orders@iqproducts.nl)  
 [www.iqproducts.nl](http://www.iqproducts.nl)