

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rivelanti antigeni umani

CD44

PURE	RUO	REF	IQP-118P	▽	100 tests
FITC	RUO	REF	IQP-118F	▽	100 tests
R-PE	RUO	REF	IQP-118R	▽	100 tests

RUO **Ad esclusivo uso di ricerca**



Descrizione

Clone MEM-85

Isotipo Murino IgG2b

Specificità Il Clone MEM-85 produce immunoglobuline di topo IgG2b che sono dirette contro il recettore umano di adesione di 85 kD.

Distribuzione dell'antigene

CD44, conosciuto anche come lymphocyte homing receptor, è comunemente espresso sia nelle cellule ematopoietiche che non. Si trova soprattutto nelle cellule epiteliali, endoteliali, mesoteliali e mesenchimali come anche nel sistema nervoso. La sua isoforma principale è il CD44 che viene espresso nelle cellule linfoidi, mieloidi ed eritroidi. La sua espressione aumenta nelle cellule T attivate o della memoria/effettori. Forme solubili di CD44 possono essere individuate nei fluidi corporei [1,2].

Riepilogo

L'antigene CD44 contribuisce all'adesione dei leucociti alle cellule endoteliali, alle cellule stromali e alla matrice extracellulare (ECM). Il ligando della membrana distale del CD44 si lega all'ECM GAG hyaluronan (HA). La capacità di legare l'HA è regolata soprattutto in quei linfociti che esprimono il legame CD44 per HA solo dopo attivazione. CD44 sembra essere coinvolto nel lymphocyte homing verso l'high endothelial venules (HEV) e nella regolazione dell'adesione LFA-3. CD44 è un recettore per la citochina osteopontina chemotattica.

Applicazioni

L'anticorpo monoclonale CD44, clone MEM-85, può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e di midollo osseo, o in immunistochimica utilizzando citospot o sezioni di tessuto congelato.

Utilizzo

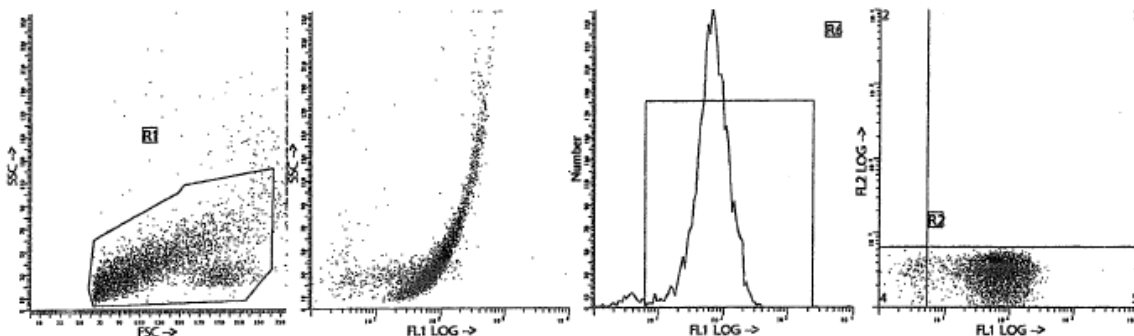
Tutti questi reagenti sono formulati per la colorazione di immunofluorescenza diretta di tessuto umano per analisi in citometria a flusso: utilizzare 10 µl/10⁶ leucociti per colorazione singola e 20 µl/10⁶ leucociti in caso di doppie e triple combinazioni. Se le applicazioni variano, l'utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere il risultato ottimale.

HLDA Workshop

Al Clone MEM-85 è stato assegnato il cluster durante il IV° Leukocyte Typing Workshop[3,4].

Dati Rappresentativi

Le analisi citofluorimetriche eseguite utilizzando il clone MEM-85 (CD44) su normali cellule del sangue sono riportate di seguito. E' stata effettuata una colorazione diretta utilizzando 10 µl di CD44 coniugato con FITC e 100 µl di sangue intero.



Limitazioni

1. I coniugati con fluorocromi più luminosi quali PE e APC, presenteranno una maggiore separazione rispetto a coniugati con altre tinte come FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, il calcolo della percentuale positiva per un determinato marcatore può essere influenzato dalla scelta del fluorocromo.
2. L'uso di anticorpi monoclonali nel trattamento di pazienti può interferire con il riconoscimento degli antigeni bersaglio da parte di questo reagente. Sarà necessario tenerne conto quando vengono eseguite analisi su 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 del laboratorio dovrebbero acquisire familiarità con le caratteristiche di ciascun anticorpo in relazione ai marcatori combinati in campioni normali e non.
4. I dati relativi all'attività del reagente si basano su sangue trattato con EDTA. L'attività del reagente può essere influenzata dall'utilizzo di altri anti coagulanti.

Reagenti e materiale necessari ma non in dotazione

1. Citometro a flusso
2. Provetta per citometro a flusso con tappo in polistirene monouso 12 x 75-mm
3. Micropipetta con puntali usa e getta
4. Vortex
5. Centrifuga
6. IQ Lyse – soluzione lisante gli eritrociti (IQP-199)
7. IQ Starfiqs – soluzione di permeabilizzazione e fissaggio (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 Massimo 1 settimana)

Colorazione immunofluorescente e protocolli di lisi

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

1. Aggiungere 100 µl di sangue intero trattato con EDTA (circa 10⁶ leucociti) ad una provetta di reagente da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per l'esecuzione di 1 test.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 10 µl di anticorpo monoclonale purificato*. Miscelare la provetta su 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, miscelare su vortex e centrifugare (2 min 1000 x g.) ed eliminare il surnatante.
5. Aggiungere 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. Miscelare su vortex e incubare la provetta al buio per 15 minuti a temperatura ambiente.
7. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
8. Incubare la provetta 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 marcate per 2 minuti a 1000 x g.
11. Eliminare il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS**.
12. Analizzare tramite citometria a flusso entro 4 ore (in alternativa le cellule possono essere fissate tramite 0.05% di formalina in soluzione salina tamponata per eseguire l'analisi il giorno successivo. *Alcuni antigeni vengono distrutti subito al momento della fissazione quindi sarà necessario tenerne conto nel caso si decida di ricorrere a questa alternativa).*

- B - Metodo di citometria a flusso per anticorpi monoclonali coniugati (FITC, R-PE, Cy-Q o APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (circa 10⁶ leucociti) ad una provetta di reagente da 5 ml. Il contenuto di ogni provetta è sufficiente per l'esecuzione di 1 test.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 10 µl di anticorpo monoclonale coniugato*. Miscelare la provetta su 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 all'uso) e miscelare immediatamente.
5. Incubare la provetta al buio per 10 minuti a temperatura ambiente.
6. Aggiungere 2ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
7. Centrifugare la sospensione di cellule marcate per 2 minuti a 1000 x g.
8. Eliminare il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS**.
9. Analizzare tramite citometria a flusso entro 4 ore (in alternativa le cellule possono essere fissate tramite 0.05% di formalina in soluzione salina tamponata per eseguire l'analisi il giorno successivo. *Alcuni antigeni vengono distrutti subito al momento della fissazione quindi sarà necessario tenerne conto nel caso si decida di ricorrere 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 (circa 10⁶ leucociti) ad una provetta di reagente da 5 ml. Il contenuto di ciascuna provetta è sufficiente per l'esecuzione di 1 test.
Per combinazioni di Ig anti-kappa e/o anti-lambda Ig vedere la nota applicativa sottostante.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 20 µl di combinazione di anticorpi monoclonali coniugati*.
3. Miscelare la provetta su 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 all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare la provetta al buio per 10 minuti a temperatura ambiente.
7. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
8. Centrifugare la sospensione di cellule marcate per 2 minuti a 1000 x g.
9. Rimuovere il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS**.
10. Analizzare tramite citometria a flusso entro 4 ore (in alternativa le cellule possono essere fissate tramite 0.05% di formalina in soluzione salina tamponata per eseguire l'analisi il giorno successivo. *Alcuni antigeni vengono distrutti subito al momento della fissazione quindi sarà necessario tenerne conto nel caso si decida di ricorrere a questa alternativa.*

* Adeguate campioni di controllo di IgG di topo dovrebbero essere sempre inclusi in qualsiasi tipo di studio di identificazione

** PBS: soluzione salina di tampone fosfato, pH 7.2

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

Aggiungere alla sospensione cellulare 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina (**preriscaldata a 37 °C**)

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 in fiala da 100 test (1 ml) per combinazioni single o da 50 test (1 ml) per combinazioni doppie o triple. Sono forniti in 0.01 M sodio fosfato, 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 in etichetta sulla fiala, se conservati correttamente.

Garanzia

La sola garanzia offerta è di conformità a quantità e contenuti indicate sull'etichetta al momento della fornitura al cliente. Non vengono concessi altri tipi di garanzia, espresso o impliciti, che esulino dalla descrizione riportata sull'etichetta del prodotto. IQ Products non sarà responsabile di danni a proprietà, persone o perdite economiche causate dal prodotto.

Caratterizzazione

Per garantire un livello qualitativo costantemente elevato, ciascun lotto di anticorpi monoclonali è testato per la conformità alle caratteristiche di un reagente standard. Dati rappresentativi relativi alla citometria a flusso sono inclusi nella presente scheda del prodotto.



Attenzione Tutti i prodotti contengono sodio azide, sostanza chimica velenosa e pericolosa. L'uso sarà consentito esclusivamente a operatori specializzati.

Riferimenti bibliografici

1. Lesley, J., et al 1993. Adv. Immunol. 54. 271-335
2. Barclay, A.N., 1997. The Leucocyte Antigen FactsBook. Academic Press 241-243
3. Knapp, W., et al., eds. 1989. Leucocyte Typing IV. Oxford Univ. Press. Oxford
4. Bazil, V., Horejsi, V., 1992. J. Immunol. 149. 747-753

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)

		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