

## FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

### Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

#### CD11c

PURE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-119P	▽	100 tests
R-PE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-119R	▽	100 tests

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

#### **Descrizione**

**Clone** B-ly6

**Isotipo** murino IgG1

**Specificità** B-ly6 reagisce con un antigene di membrane da 150.95 kD. Esso è specifico per la subunità a dell'eterodimero CD11c/CD18.

#### **Distribuzione dell'antigene**

L'antigene CD11c è espresso principalmente sui monociti e in bassa densità sui Granulociti e cellule NK. Alti livelli di CD11c sono espresso sui macrofagi dei tessuti. E' stato anche trovato su linee cellulari linfoidi che includono la Leucemia a Cellule Capellute.

#### **Riepilogo**

CD11c (subunità dell'integrina aX ) si combina con CD18 (subunità dell'integrina b2) per formare l'integrina p150,95 (aXb2, CD11c/CD18). Gli anticorpi CD11c legano ligandi multipli che includono il frammento del complemento iC3b, CD54 (ICAM-1), fibrinogeno e lipopolisaccaride batterico.

#### **Applicazioni**

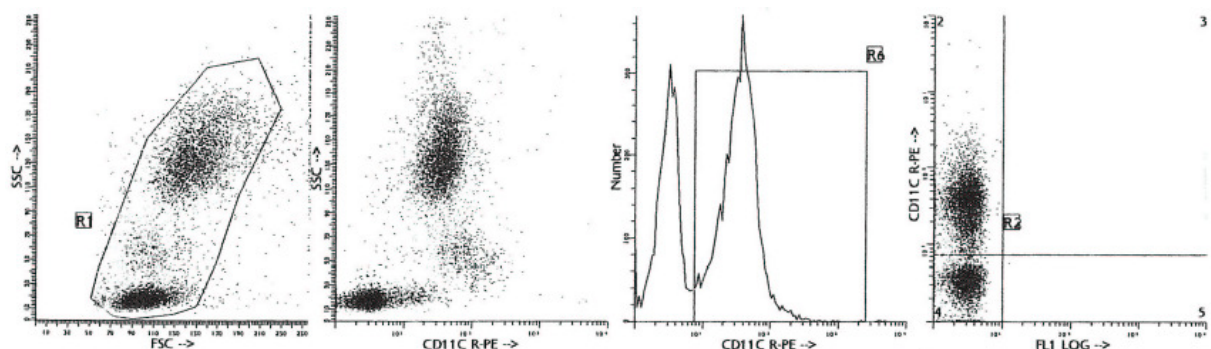
Clone B-ly6 può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e di midollo osseo in immunocitochimica utilizzando cytopspots o sezioni di tessuto congelato. Gli anticorpi CD11c sono utilizzati per l'identificazione dei Macrofagi in sezioni di tessuto e nella diagnosi in immunocitochimica della Leucemia a Cellule Capellute (HCL) e nell'analisi di Monociti e cellule NK in citometria a flusso. CD11c/CD18 si è visto giocare un ruolo importante nella citotossicità uccidendo le cellule T, e nell'adesione dei Neutrofili e Monociti all'endotelio sebbene i suoi ligandi in questi due casi non sono stati identificati. CD11c/CD18 non è espresso sui Leucociti di pazienti con deficienza di leucociti d'adesione. La mancanza di adesione dei Leucociti è la conseguenza del difetto del gene CD18, che conduce ad una diminuita espressione di tutte le integrine contenenti CD18.

#### **Utilizzo**

Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazioni di immunofluorescenza diretta di tessuti umani per analisi di citometria a flusso utilizzando 10 µl/10<sup>6</sup> leucociti per singola marcatura e 20 µl/10<sup>6</sup> leucociti in caso di doppie e triple combinazioni. Se le applicazioni variassero, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere risultati ottimali.

#### **Dati Rappresentativi**

Sono illustrate analisi di citometria a flusso di cellule normali di sangue colorando con il clone B-ly6 (CD11c) gli anticorpi monoclonali. La colorazione diretta è stata eseguita utilizzando 10 µl dell'anticorpo coniugato con R-PE con 100 µl di campione di sangue.



## Riproducibilità

Gli anticorpi monoclonali prodotti da IQ Products sono stati testati in citometria utilizzando la metodica 'lyse-wash' su sangue intero da donatori sani. I dati ottenuti supportano la premessa che questi reagenti sono equivalenti nella loro reattività con linfociti di sangue periferico. I valori sono espressi in termini di % della conta dei linfociti totali. (vedi tabella).

Reagente	n	Mean % positive	S.D.	% CV	Codice Prodotto
CD 11c R-PE	10	63.50	4.62	7.27	IQP-119R

## 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 cioè 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

Risospingere 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. Larson, R.S., and Springer, T.A., 1990 Immunol. Rev. 114, 181-217
  2. Pigott, R., Power, C., 1993 The adhesion Molecule Factsbook. Academic Press, London
  3. Loike, J.D., et al 1991 Proc.Natl Acad. Sci. USA 88.1044-1048
  4. Ingalls, R.R., and Golenbock. D.T., 1995 J. Exp. Med. 181. 1473-1479
  5. Arnout, M.A., 1990 Immunol. Rev. 114, 145-180
  6. Barclay A.N., et al 1997 The Leucocyte Antigen Factsbook. Academic Press. London
- 

## 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](mailto:marketing@iqproducts.nl)
-  Orders [orders@iqproducts.nl](mailto:orders@iqproducts.nl)
-  [www.iqproducts.nl](http://www.iqproducts.nl)