

PRODUCT INFORMATION SHEET

Monoclonal antibodies detecting human antigens

CD22

PURE	ORALL	REF	IQP-110P	▼	100 tests
FITC	ORALL	REF	IQP-110F	▼	100 tests
R-PE	ORALL	REF	IQP-110R	▼	100 tests

ORALL Exclusivamente para uso em investigação



Descrição

Clone B-LY8

Isotipo Murino IgG1

Especificidade Clone B-LY8, produz IgG1 imunoglobulinas dirigida contra os CD22, Peso molecular 130-140 kD.

Distribuição de antígenos

CD22 é detectada no citoplasma no início do desenvolvimento de células B (tarde pro-fase de células B), aparece na superfície da célula em simultâneo com a superfície IgD, e é encontrado na maioria das células B maduras. Expressão é perdido com a diferenciação terminal de células B e está ausente em células plasmáticas. Ativação de células B através de Ig de superfície aumenta a expressão de CD22 [1]. CD22 reage com a maioria das leucemias de células B incluindo células pilosas (HCL) e os linfomas cutâneos de células B.

Resumo

OS anticorpos CD22 são utilizados em citometria de fluxo e imunohistoquímica como uma panela de células B reagente, para a imunofenotipagem dos linfomas cutâneos de células B e HCL. Ele é mais fortemente expressa em leucemia prolinfocítica e HCL do que na leucemia linfocítica crônica. Todas as linhagem celular B, expressam na membrana citoplasmática o CD22. As formas complexas CD22 com a solto antígeno das células BcR receptor (BcR) [2]. O domínio é citoplasmática tirosina fosforilada mediante ligadura do BCR e associados através de SH2 domínios com a tirosina fosfatase SHP-1, a tirosina quinase Syk e fosfolipase C-g1 [3,4]. CD22 para baixo-modula o limiar de ativação de células B, presumivelmente através de sua associação com SHP-1 e outras moléculas de sinalização [2,3]. Camundongos deficientes em CD22 mostraram as respostas de anticorpos exagerada para o Antígeno e levantaram níveis de auto-anticorpos [1,5]. CD22 também pode mediar a adesão celular através de sua interação com moléculas de superfície celular que ostentam o adequado sialoglyco-conjugados, mas apenas quando estas não são conjugados no CD22 própria célula do rolamento [2,6].

Aplicativos

O anticorpo monoclonal CD22, clone B-LY8 pode ser aplicado em citometria de fluxo para a análise de amostras de sangue e medula óssea ou em imunohistoquímica usando cytosspots ou secções de tecido congelado.

Utilização

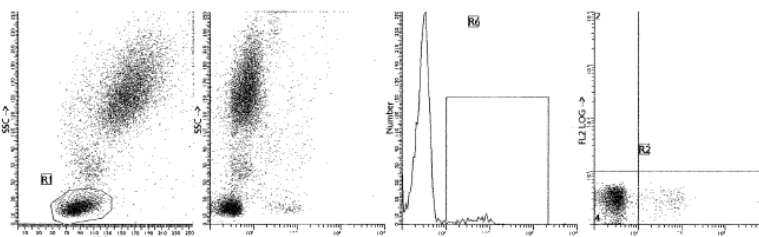
Todos estes reagentes são efetivamente formulados para coloração de imunofluorescência direta do tecido humano para análise de citometria de fluxo usando 10 µl/106 leucócitos separados e 20 µl/106 leucócitos no caso de combinações de duplas e triplas. Visto que os aplicativos variam, cada investigador deve dosar o reagente para obter resultados ideais.

Workshop HLDA

O antígeno leucocitário FactsBook - Barclay, A.N. et al, Academic Press. Londres (1997).

Dados representativos

O Clone B-LY8 (CD22) foi analisada por citometria de fluxo usando uma amostra de sangue de uma saudável voluntário. Foi realizada a coloração indireta por adição de 10 µl diluída em anticorpo monoclonal para 100 µl amostra de sangue, seguido de FITC-rotuladas de anticorpo secundário.



Limitações

1. Conjugados com fluorocromos mais brilhante, como PE e a APC, terá uma maior separação do que aqueles com corantes como FITC e trimestre. Quando as populações se sobrepõem, a percentagem de células positivas usando um marcador selecionado pode ser afetada pela escolha da etiqueta fluorescente.
2. Uso de anticorpos monoclonais no tratamento do paciente pode interferir com o reconhecimento pelo antígeno target este reagente. Este facto deve ser tido em conta quando são analisadas amostras de pacientes tratados desta forma. Produtos IQ não tem caracterizado o efeito da presença de anticorpos terapêuticos sobre o desempenho deste reagente.
3. Os reagentes podem ser utilizados em combinações diferentes laboratórios, portanto necessidade de conhecer as características de desempenho de cada anticorpo em relação com a combinação de marcadores nas amostras normais e anormais.
4. Reagente de desempenho de dados é baseado em EDTA-sangue tratado. Desempenho de reagente pode ser afetado pelo uso de outros anticoagulantes.

Reagentes e materiais necessários mas não fornecidos

1. Citômetro de fluxo
2. Citometria de fluxo descartável 12 x 75 mm de poliestireno cobertas de tubos de ensaio
3. Micropipeta com pontas descartáveis
4. Agitador de vórtice
5. Centrífuga
6. IQ lissar - solução de lise de hemácias (IQP-199)
7. IQ Starfiqs - Fixação e permeabilização solução (IQP-200)
8. PBS (solução salina tamponada com fosfatos)
9. Solução de paraformaldeído a 1% em PBS (armazenar a 2-8 °C em vidro âmbar para até 1 semana)

i

Técnica de coloração de imunofluorescência indireta e lissar protocolo

- A - Método de citometria de fluxo para uso com anticorpos monoclonais purificado

1. Adicionar 100 µl de EDTA-sangue tratado (ou seja aproximadamente 106 leucócitos) para um tubo de 5 ml de reagente. O conteúdo de um tubo é suficiente para a execução de um teste.
2. Adicionar a cada tubo 10 µl de anticorpo monoclonal purificado*. Vortex o tubo para assegurar uma mistura completa dos anticorpos e células.
3. Incubar o tubo durante quinze minutos em temperatura ambiente no escuro.
4. Lavar as células marcadas pela adição de 2 ml de PBS contendo 0,001% (v/v) Heparina, centrifugação e centrifugação (2 min 1000 x g.) e descarte o sobrenadante.
5. Adicionar 50 µl de 1:10 de diluição de produtos IQ F(ab)2 Coelho Anti IgG de camundongo conjugado fluorescente, [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] em PBS contendo 0,001% (v/v) de heparina para o tubo. É recomendado que o tubo está protegido da luz.
6. Misturar por centrifugação e incubar durante 15 minutos à temperatura ambiente no escuro.
7. Adicionar 100 µl do IQ lissar (IQP-199 prontos para uso) e misturar imediatamente.
8. Incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente no escuro.
9. Adicionar 2 ml de água desmineralizada e incubar durante dez minutos no escuro.
10. Centrifugar a suspensão de células rotuladas durante 2 minutos a 1000 x g.
11. Extrair a fracção sobrenadante e colocar novamente as células em 200 µl de PBS**.
12. Análise por citometria de fluxo no prazo de quatro horas (alternativamente, as células podem ser fixadas por 0,05% de formalina em salina tamponada para análise no dia seguinte. Alguns antígenos são prontamente destruídas mediante a fixação e isso deve ser levado em conta quando usando essa alternativa).

- B - Método de citometria de fluxo para uso com rotulada (FITC, R-PE, CY-Q ou APC) anticorpos monoclonais

1. Adicionar 100 µl de EDTA-sangue tratado (ou seja aproximadamente 106 leucócitos) para um tubo de 5 ml de reagente. O conteúdo de um tubo é suficiente para a execução de um teste.
2. Adicionar a cada tubo 10 µl de anticorpo monoclonal rotulada*. Vortex o tubo para assegurar uma mistura completa dos anticorpos e células.
3. Incubar o tubo durante quinze minutos em temperatura ambiente no escuro.
4. Adicionar 100 µl do IQ lissar (IQP-199 prontos para uso) e misturar imediatamente.
5. Incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente no escuro.
6. Adicionar 2 ml de água desmineralizada e incubar durante dez minutos no escuro.
7. Centrifugar a suspensão de células rotuladas durante 2 minutos a 1000 x g.
8. Extrair a fracção sobrenadante e colocar novamente as células em 200 µl de PBS**.
9. Análise por citometria de fluxo no prazo de quatro horas (alternativamente, as células podem ser fixadas por 0,05% de formalina em salina tamponada para análise no dia seguinte. Alguns antígenos são prontamente destruídas mediante a fixação e isso deve ser levado em conta quando usando essa alternativa).

- C - Método de citometria de fluxo para uso com combinações duplas e triplas

1. Adicionar 100 µl de EDTA-sangue tratado (ou seja aproximadamente 106 leucócitos) para um tubo de 5 ml de reagente. O conteúdo de um tubo é suficiente para a execução de um teste.
Para combinações com anti-kappa e/ou anti-lambda Ig ver nota de aplicação abaixo.
2. Adicionar a cada tubo 20 µl de anticorpo monoclonal rotulada combinação*.
3. Vortex o tubo para assegurar uma mistura completa dos anticorpos e células.
4. Incubar o tubo durante quinze minutos em temperatura ambiente no escuro.
5. Adicionar 100 µl do IQ lisar (IQP-199 prontos para uso) e misturar imediatamente.
6. Incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente no escuro.
7. Adicionar 2 ml de água desmineralizada e incubar durante dez minutos no escuro.
8. Centrifugar a suspensão de células rotuladas durante 2 minutos a 1000 x g.
9. Extrair a fracção sobrenadante e colocar novamente as células em 200 µl de PBS**.
10. Análise por citometria de fluxo no prazo de quatro horas (alternativamente, as células podem ser fixadas por 0,05% de formalina em salina tamponada para análise no dia seguinte. Alguns antígenos são prontamente destruídas mediante a fixação e isso deve ser levado em conta quando usando essa alternativa).

* adequado mouse isótipo de Ig amostras de controlo deve ser sempre incluída em qualquer estudo de rotulação

** PBS: Solução salina tamponada com fosfato, pH 7,2

Nota de aplicação para anti-kappa e/ou anti-lambda combinações de Ig

Adicionar 2 ml de PBS contendo 0,001% (v/v) Heparina (**lavam-a 37 °C**) para a suspensão de células
Vortex, centrifugar (2 min a 300 x g) e descarte o líquido sobrenadante
Repita esta etapa duas vezes
Ressuspender o peletizada células do sangue em 100 µl tampão PBS contendo 0,001% (v/v) Heparina



Manuseamento e armazenagem

Os anticorpos são fornecidos como 100 testes por frasco (1 ml) para solteiros ou 50 testes por frasco (1 ml) para combinações duplas e triplas. Eles são fornecidos em fosfato de sódio 0,01 M, 0,15 M NaCl; pH 7,3, 0,2%, 0,09% sodiazide BSA (NaN3). Armazenar os tubos a 2-8 °C. Os anticorpos monoclonais devem ser protegidos da exposição prolongada à luz. Os reagentes são estáveis durante o período indicado no rótulo do frasco quando armazenado corretamente.

Garantia Produtos vendidos aqui são justificáveis apenas em conformidade com a quantidade e o conteúdo indicado na etiqueta no momento de entrega ao cliente. Não existem quaisquer garantias expressas ou implícitas que ultrapassem a descrição no rótulo do produto. Produtos IQ não é responsável por danos de propriedade, ferimentos pessoais ou prejuízos económicos causados pelo produto.

Caracterização












Para garantir consistentemente os reagentes de alta qualidade, cada lote de anticorpo monoclonal é testado para conformidade com características de um reagente padrão. Representante citometria de fluxo de dados está incluído nesta folha de dados.

Aviso Todos os produtos contêm sodiazide. Este produto químico é venenoso e perigosos. Tratamento deve ser feito apenas por pessoal devidamente qualificado.

Referências

1. Barclay, A.N., et al . 1997. A fórmula leucocitária Antigen FactsBook. Academic Press. London 186-188
2. Direito, C.L., et al . 1994. Trans Am Clin Climatol Assoc.. Hoje 15. 4442-449
3. Doody, G.Milk et al, 1996. Curr.Opinia. Trans Am Clin Climatol Assoc.. 8. 378-382
4. Direito, C.L., et al . 1996. J. Exp. Med. 183. 547-560
5. O'Keefe, t.L. et al . 1996. Ciência 274. 798-801
6. Schwartz-Albiez, R., et al 1991. Imunologia internacionais 3. 623-633

Explicação dos símbolos utilizados

	Consulte as instruções de uso
	Número de catálogo
	Suficiente para
	Cuidado, consulte documento de acompanhamento
	Manter afastado de luz solar
	Riscos biológicos
	Limitação de Temperatura (°C)
	Exclusivamente para uso em investigação
	Código de lote
	Utilização por aaaa-mm-dd
	Fabricante

		Etiqueta tandem	- Ex -max (nm)	Em -max (nm)
P	Puro	Material purificado	-	-
F	FITC	FITC	488	519
R	R-PE	PE	488, 532	578
C	Trimestre de	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, Países Baixos



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

IQ Products
bright fluorescence