

## PRODUCT INFORMATION SHEET

### Monoclonal antibodies detecting human antigens

#### CD22

PURE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">ORALL</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-110P	▽	100 tests
FITC	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">ORALL</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-110F	▽	100 tests
R-PE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">ORALL</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	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 cytosots ou secções de tecido congelado.

#### Utilização

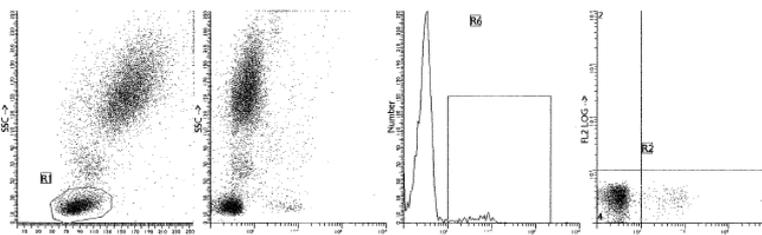
Todos estes reagentes são efetivamente formulados para coloração de imunofluorescência direta do tecido humano para análise de citometria de fluxo usando 10 µl/106 leucócitos separados e 20 µl/106 leucócitos no caso de combinações de duplas e triplas. Visto que os aplicativos variam, cada investigador 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)<sub>2</sub> 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.Mik 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

		<b>Etiqueta tandem</b>	<b>- Ex -max (nm)</b>	<b>Em -max (nm)</b>
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](mailto:marketing@iqproducts.nl)  
Encomendas [orders@iqproducts.nl](mailto:orders@iqproducts.nl)  
[www.iqproducts.nl](http://www.iqproducts.nl)

**IQ Products**  
bright fluorescence