

## FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

### Anticorpi monoclonali rivelanti antigeni umani

#### CD45RA

PURE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-123P	▼	100 tests		<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-123P50	▼	50 tests
FITC	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-123F	▼	100 tests		<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-123F50	▼	50 tests
R-PE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-123R	▼	100 tests		<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-123R50	▼	50 tests



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



#### Descrizione

<b>Clone</b>	MB1
<b>Isotipo</b>	murino IgG1
<b>Specificità</b>	Clone MB1 (CD45RA), un'isoforma del CD45, determina un epitopo ristretto (CD45R) A (es. CD45RA) del complesso del CD45.

#### Distribuzione antigene

MB1 riconosce cellule B normali e neoplastiche ma non le plasmacellule mature; monociti, granulociti e il 50% di cellule T mature. MB1 non reagisce con cellule di tipo non linfoide. MB1 reagisce con linfociti nelle aree delle cellule B di tessuti normali linfoidi.

#### Sommario

CD45, anche conosciuto come Leukocyte Common Antigen (LCA) o antigene T200, comprende diverse glicoproteine tra i 180-240 kD. Il clone MB1 (CD45RA), un'isoforma del CD45, determina un epitopo ristretto (CD45R) A (es. CD45RA) del complesso del CD45. Questa espressione ristretta è correlata con la funzione delle molecole e mostra una differente espressione tra sottotipi differenti di cellule linfoidi. La loro attività funzionale potrebbe essere correlata all'induzione dell'attività soppressoria o citotossica, e ai processi di attivazione.

#### Applicazioni

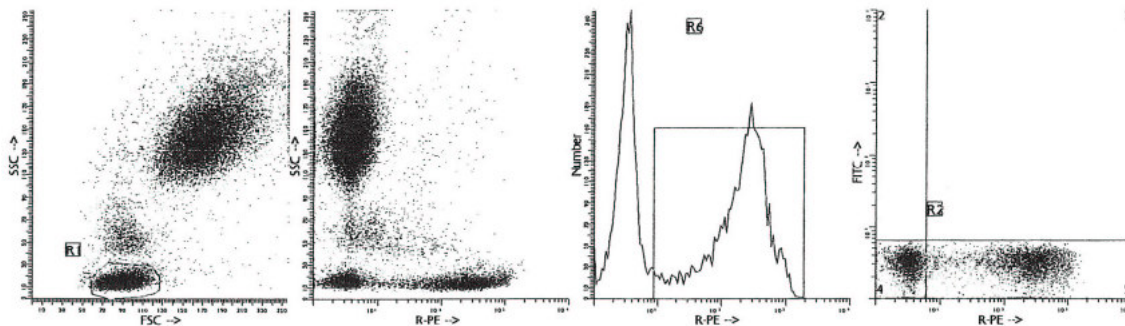
CD45RA (MB1), può essere utilizzato in citometria o in immunostochimica utilizzando citospot o sezioni di tessuto congelato, o sezioni di tessuto incluso in paraffina. Gli anticorpi monoclonali determinanti tutte le isoforme del CD45, es. clone ML2, hanno avuto il cluster di designazione CD45. Altre isoforme possono essere determinate utilizzando CD45RB (MT4), CD45RO (UCHL1), e CD45RC (MT2). La determinazione delle differenti isoforme possono distinguere, per esempio, tra cellule T naïve e cellule T memory, che sono di interesse nei pazienti con immunodeficienza e con malattie autoimmuni.

#### Utilizzo

Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazioni dirette di immunofluorescenza di tessuto umano per analisi di citometria a flusso utilizzando 10 µl/10<sup>6</sup> leucociti per singole marcature 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

Analisi in citometria a flusso di colorazioni di anticorpi monoclonali con clone MB1 (CD45RA) di normali cellule di sangue sono illustrate qui sotto. Colorazioni dirette sono state fatte utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con R-PE in 100 µl di campione di sangue.



## Riproducibilità

Gli anticorpi monoclonali vengono testate da IQProducts attraverso la citometria a flusso utilizzando la metodica 'lyse-wash' su sangue intero da donatore sano. 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 totale dei linfociti (vedi tabella).

Reagente	n	Mean % positive	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD45RA FITC	10	55,03	7,57	13,75	IQP-123F
CD45RA R-PE	10	64,44	7,54	11,69	IQP-123R

## Limitazioni

1. I coniugati con fluorocromi più brillanti, quali PE e APC, avranno una separazione più grande di quelli coniugati con FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, la percentuale delle cellule positive usando un marker selezionato può essere influenzata dalla scelta del fluorocromo utilizzato.
2. L'utilizzo di anticorpi monoclonali in pazienti in trattamento, può interferire con il riconoscimento dell'antigene bersaglio a causa di questo reagente. Questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando vengono analizzati campioni di pazienti trattati in terapia con anticorpi monoclonali. IQ Products non ha caratterizzato l'effetto della presenza di anticorpi terapeutici sulla prestazione di questo reagente.
3. I reagenti possono essere utilizzati in differenti combinazioni, quindi è necessario che i laboratori diventino familiari con le caratteristiche di prestazione di ogni anticorpo in relazione con i marcatori combinati in campioni normali e anormali.
4. Il dato della prestazione del reagente è basato su sangue trattato con EDTA. La prestazione del reagente può essere influenzata dall'uso di altri anticoagulanti.

## Reagenti e materiali richiesti ma non forniti

1. Citofluorimetro
2. Provette di polistirene con tappo per analisi al citofluorimetro 12 x 75-mm
3. Micropipette con puntali monouso
4. Agitatore Vortex
5. Centrifuga
6. IQ Lyse – soluzione lisante per eritrociti (IQP-199)
7. IQ Starfiqs – soluzione fissativa e permeabilizzante (IQP-200)
8. PBS (tampone fosfato salino)
9. 1% soluzione di paraformaldeide in PBS (conservare a 2-8 °C in vetro ambrato fino ad una settimana)

**IQProducts**  
bright fluorescence

## Colorazione di immunofluorescenza e protocollo di lisi

### - A - Metodica citofluorimetrica per l'utilizzo di anticorpi monoclonali purificati

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (per esempio circa 106 leucociti) ad una provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere ad ogni provetta 10 µl di anticorpo monoclonale purificato \*.Agitare la provetta con il vortex per una perfetta miscelazione delle cellule e dell'anticorpo.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente e al buio.
4. Lavare le cellule marcate aggiungendo 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) Eparina, agitare con il vortex e centrifugare (2 min 1000 x g.) e scartare il surnatante.
5. Aggiungere 50 µl di 1:10 diluizione di IQ Products F(ab)2 Rabbit Anti Mouse IgG coniugato fluorescente, [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] in PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina per la provetta. Si raccomanda che la provetta sia protetta dalla luce.
6. Miscelare con il vortex e incubare per 15 minuti a temperatura ambiente e al buio.
7. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
8. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente e al buio.
9. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
10. Centrifugare la sospensione di cellule marcate per 2 minuti a 1000 x g.
11. Rimuovere il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS\*\*.
12. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore ( in alternativa, le cellule dovrebbero essere fissate con 0.05% di formaldeide in tampone salino per analizzarle il giorno successive. Alcuni antigeni sono subito distrutti dopo la fissazione e questo deve essere tenuto in considerazione quando si utilizza questa alternativa).

- B - Metodica citofluorimetrica per l'uso di anticorpi monoclonali coniugati con (FITC, R-PE, Cy-Q or APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA( per esempio circa 106 leucociti) nella provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere in ogni provetta 10 µl di anticorpo marcato\*. Agitare la provetta con il vortex per assicurare una buona miscelazione di anticorpo e cellule.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperature ambiente e al buio.
4. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
5. Incubare per 10 minuti a temperature ambiente e al buio.
6. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
7. Centrifugare la sospensione cellulare marcata per 2 minuti a 1000 x g.
8. Rimuovere il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS\*\*.
9. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternative, le cellule dovrebbero essere fissate con formaldeide allo 0.05% in tampone salino per analizzare il giorno successivo). Con la fissazione alcuni antigeni vengono subito distrutti e questo fatto dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si usa questa alternativa.

- C - Metodica citofluorimetrica per l'utilizzo di doppie e triple combinazioni.

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ad esempio 106 leucociti) nella provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.

**Per combinazioni con Ig anti-kappa e/o anti-lambda Ig vedi nota applicativa qui sotto.**

2. Aggiungere a ogni provetta 20 µl di anticorpi monoclonali combinati\*.
3. Agitare con il Vortex la provetta per assicurarsi una perfetta miscelazione delle cellule con gli anticorpi
4. Incubare la provetta per 15 minuti a temperature ambiente al buio.
5. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare per 10 minuti a temperature ambiente al buio.
7. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
8. Centrifugare la sospensione cellulare marcata per 2 minuti a 1000 x g.
9. Rimuovere il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS\*\*.
10. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternative, le cellule dovrebbero essere fissate con formaldeide allo 0.05% in tampone salino per analizzare il giorno successivo). Con la fissazione alcuni antigeni vengono subito distrutti e questo fatto dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si usa questa alternativa.

\* Appropriati campioni di mouse Ig isotipo per controllo dovrebbero essere sempre inclusi in ogni studio di marcatura

\*\* PBS: Tampone Fosfato Salino, pH 7.2 \*

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

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

Miscelare con vortex, centrifugare (2 min a 300x g) e scartare il surnatante .

Ripetere questo 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 per 100 test per fiala (1 ml) per la singola marcatura o 50 tests per fiala I (1 ml) per le doppie e triple combinazioni. Essi sono forniti in 0.01 M di sodiofosfato, 0.15 M NaCl; pH 7.3, 0.2% BSA, 0.09% sodioazide (NaN<sub>3</sub>). Conservare le fiale a 2-8 °C. Gli anticorpi monoclonali dovrebbero essere protetti da lunghe esposizioni alla luce .I reagenti sono stabili per il periodo mostrato sull'etichetta della fiala quando conservati accuratamente.

**Garanzia** I prodotti venduti qui di seguito sono garantiti solo per conformità alla e al contenuto dichiarato sull'etichetta al tempo della spedizione al cliente. Non ci sono garanzie , espresso o implicite, che si estendono oltre la descrizione sull'etichetta del prodotto . IQ Products non è responsabile per danno alla proprietà ,ferita personale o perdita economica causata dal prodotto.

**Caratterizzazione**














Per assicurare costantemente l'alta qualità dei reagenti, ogni lotto di anticorpo monoclonale è testato per essere conforme alle caratteristiche di un reagente standard. Il dato citofluorimetrico rappresentativo è incluso in questo foglio illustrativo.

**Attenzione** Tutti i prodotti contengono SodioAzide. Questo prodotto chimico è velenoso e pericoloso. La manipolazione dovrebbe essere fatta solo da personale esperto.

## Referenze

1. Thomas, M.L., 1989. Annu. Rev. Immunol. 7: 339
2. Streuli, M., 1987 J. Exp. Med. 166: 1548
3. Hall, P.A., et al. 1987. J. Clin. Pathol. 40: 151
4. Poppema, S., et al 1987. Am. J. Pathol. 127: 418
5. West, K.P., 1986. J. Pathol. 150: 89
6. Young, J.L., 1997. Eur. J. Immunol. 27: 2383
7. Grotjahn, C., et al., 1998, p.446. Leucocyte Antigen Workshop VI.1998. Kishimoto et al., eds. Oxford University Press
8. Poppema, S., et al., 1996. Leukemia and Lymphoma, 20, 217-222
9. Visser, L., & Poppema, S., in Leucocyte Typing VI. 1998. Oxford University Press

## 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)