

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD45

| | | | | | |
|-------------|---|---|------------|---|-----------|
| PURE | RUO | REF | IQP-124P | ▽ | 100 tests |
| FITC | IVD | REF | IQP-124F | ▽ | 100 tests |
| R-PE | IVD | REF | IQP-124R | ▽ | 100 tests |
| CyQ | IVD | REF | IQP-124C | ▽ | 100 tests |
| APC | IVD | REF | IQP-124A | ▽ | 100 tests |
| Dy-410 | RUO | REF | IQP-124D | ▽ | 100 tests |
| PerCP | RUO | REF | IQP-124PC | ▽ | 100 tests |
| PerCP-Cy5.5 | RUO | REF | IQP-124PCC | ▽ | 100 tests |



Da usare nella diagnostica in vitro
Da usare esclusivamente nella ricerca



Descrizione

Clone ML2

Isotipo Murino IgG1

Specificità CD45 (ML2) reagisce con l'antigene CD45, anche conosciuto come leukocyte common antigen (LCA) o antigene T200, incluse differenti glicoproteine che variano tra i 180-240 kD.

Distribuzione dell'antigene

L'espressione del CD45 si trova su tutte le cellule emopoietiche, quali granulociti, monociti, macrofagi e linfociti, eccetto cellule eritroidi mature. Nell'uomo c'è un'espressione eterogenea di isoforme del CD45 (RA, RB, RO, RC) sulla sottopopolazione dei linfociti quali cellule T e B.

Riepilogo

CD45 è una famiglia di tirosina fosfatasi proteina di transmembrana, criticamente coinvolta nella regolazione dei segnali di attivazione. L'identificazione delle singole isoforme permette di distinguere tra cellule naive T e memory T, importanti nell'analisi di pazienti con immunodeficienza e malattie autoimmuni.

Applicazioni

CD45 (ML2) viene utilizzato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e di midollo osseo e su sezioni di tessuto congelato o incluso in paraffina. Gli anticorpi con cluster CD45 hanno un valore comprovato di selezione del gate per linfociti, leucociti, e monociti nei test di routine che utilizzano la citofluorimetria. Combinazione di anticorpi CD45 con CD14 in campioni di sangue o midollo osseo in citometria a flusso, mostrano un'espressione variabile di questi antigeni sulle differenti popolazioni cellulari. Nelle cellule del sangue periferico, una distinzione può essere fatta tra linfociti (CD45+++ , CD14 -), monociti (CD45++ , CD14++) e granulociti (CD45++ , CD14+/-). Studi sulle funzioni delle isoforme individuali del CD45 hanno mostrato come alcuni anticorpi CD45 con potente attività immunosoppressiva, suggeriscano che il CD45 potrebbe essere un utile bersaglio nel progetto di farmaci.

Utilizzo

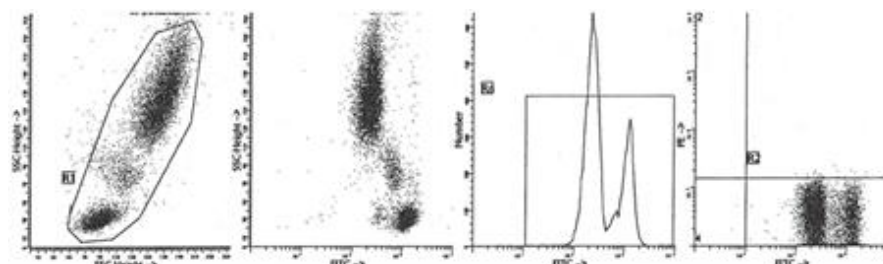
Tutti questi reagenti sono formulati per la colorazione di immunofluorescenza diretta di tessuto umano per analisi in citometria a flusso: utilizzare per singola colorazione 10 µl/10⁶ di leucociti e 20 µl/10⁶ di leucociti nel caso di doppie o triple combinazioni. Se le applicazioni variano, ogni utilizzatore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

Workshop HLDA

6th Leukocyte Typing Workshop - Kishimoto T., et al., Eds. Garland Pub. Inc. (1989)

Dati Rappresentativi

Analisi di citometria a flusso sono illustrati qui di seguito colorando con gli anticorpi monoclonali CD45, clone ML2 un campione di sangue. Colorazioni indirette sono eseguite utilizzando 10 µl di anticorpo monoclonale purificato coniugato con il RaM FITC e 100 µl di campione di sangue.



Riproducibilità

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

| Reagente | n | % media positiva | S.D. | % CV | Codice prodotto |
|-----------|----|------------------|------|------|-----------------|
| CD45 FITC | 10 | 99.43 | 0.66 | 0.66 | IQP-124F |
| CD45 R-PE | 10 | 99.75 | 0.20 | 0.20 | IQP-124R |
| CD45 CyQ | 10 | 99.33 | 0.35 | 0.35 | IQP-124C |
| CD45 APC | 10 | 99.72 | 0.30 | 0.31 | IQP-124A |

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 10⁶ 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)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. 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 ciò dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

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

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero circa 10⁶ 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 10⁶ 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).

* Adeguate campioni di controllo di isotipo 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) 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 (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 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. Thomas, M.L., 1989. Annu. Rev.Immunol. 7: 339
 2. Streuli, M., 1987 J. Exp. Med. 166: 1548
 3. Pingel, J.T. and Thomas, M.L., 1998. Cell. 58. 1055 - 1065
 4. Neel, B.G., 1997. Curr. Opin. Immunol. 9: 405
 5. Kishimoto et al, eds., Leukocyte Typing VI 1998. Garland Publishing Inc.
-

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) |

| | Conjugati | | Ex -max (nm) | Em -max (nm) |
|-----|------------------|-------------------------------------|---------------------|---------------------|
| P | PURE | Unconjugated antibody | - | - |
| F | FITC | Fluorescein Isothiocyanate | 488 | 519 |
| R | R-PE | R-Phycoerythrin | 488, 532 | 578 |
| C | CyQ | Tandem conjugate of R-PE-and Cy5.18 | 488, 532 | 667 |
| A | APC | Allophycocyanin | 595, 633, 635, 647 | 660 |
| D | Dy-410 | Violet Dye 410 | 405 | 460 |
| PC | PerCP | Peridinin-chlorophyll-protein | 488, 532 | 678 |
| PCC | PerCP-Cy5.5 | Tandem conjugate of PerCP-and 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