

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD25

PURE	RUO	REF	IQP-125P	▽	100 tests	REF	IQP-125P50	▽	50 tests
FITC	IVD	REF	IQP-125F	▽	100 tests	REF	IQP-125F50	▽	50 tests
R-PE	IVD	REF	IQP-125R	▽	100 tests	REF	IQP-125R50	▽	50 tests



Ad esclusivo uso di ricerca
Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Descrizione

- Clone** B-B10
- Isotipo** IgG1 murina
- Specificità** CD25 riconosce la catena da 55 kD del recettore dell'Interleuchina-2.

Distribuzione dell'antigene

Il CD25, anche conosciuto come antigene Tac o p55, è il recettore della catena α dell'Interleuchina-2 (IL-2). Il recettore per IL-2 è espresso nelle cellule attivate incluse cellule T, cellule B e monociti. E' presente anche in un sottogruppo di Timociti, cellule T e B trasformate da HTLV-1, cellule B trasformate da EBV, precursori mieloidi e oligodendrociti. L' IL-2 induce l'espressione della subunità CD25 nelle cellule NK.

Riepilogo

Il recettore per IL-2 è sovra espresso nella sindrome di Hodgkin, nella Leucemia a Cellule Capellute e nel Linfoma Anaplastico a larghe cellule. Il recettore per IL-2 nel siero è un parametro molto importante nell'ambito di trapianto, disordini infiammatori e maligni. L'IL-2R funzionale ad alta affinità è composto dall'eterodimero CD25/CD122/CD132 associato non covalentemente. La subunità CD25 isolata costituisce un IL-2R a bassa affinità, mentre l'eterodimero CD122/CD123 lega l'IL-2 con un'affinità intermedia. Sia il recettore ad affinità intermedia che quello ad alta affinità sono importanti per la segnalazione dell' IL-2. L'IL-2 induce l'attivazione e la proliferazione delle cellule T, dei Timociti, delle cellule NK, delle cellule B e dei Macrofagi. La rottura proteolitica del legame del CD25 alla membrana genera una forma solubile presente nel siero umano. Gli anticorpi CD25 hanno la capacità di inibire la reazione linfocitica mista.

Applicazioni

Il clone B-B10 si applica alla citometria a flusso per analisi su campioni di sangue e midollo osseo, all'immunoistochimica per test in vitro su sezioni di tessuto congelato e paraffinato. Gli anticorpi CD25 vengono utilizzati come marker dell'attivazione cellulare nei pazienti trapiantati, per l'identificazione delle cellule infette da virus della leucemia delle cellule T umane tipo I e II, e per l'immunofenotipizzazione di linfomi e leucemie.

Utilizzo

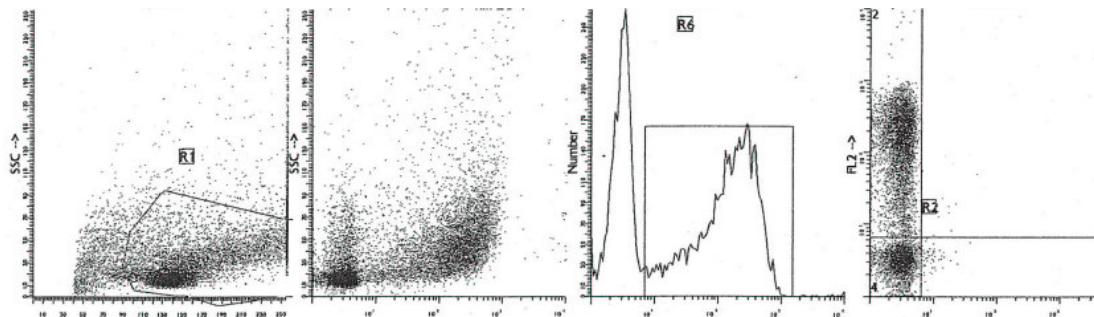
Tutti questi reagenti sono formulati per la colorazione di immunofluorescenza diretta di tessuto umano per analisi in citometria a flusso: per colorazioni singole utilizzare 10 μ l/10⁶ leucociti, per combinazioni doppie e triple utilizzare 20 μ l/10⁶ leucociti. Poiché le applicazioni possono variare, l'utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere i risultati ottimali.

Workshop HLDA

4° Workshop Leukocyte Typing - Knapp, W., et al., eds. 1990.

Dati Rappresentativi

Le analisi citofluorimetriche effettuate utilizzando il clone B-B10 (CD25) su linfociti attivati del sangue periferico sono illustrate di seguito. E' stata fatta una colorazione indiretta utilizzando 10 μ l di anticorpo monoclonale purificato con RaM R-PE per 100 μ l di linfociti attivati.



Riproducibilità

Gli anticorpi monoclonali IQ Products vengono testate in citometria a flusso utilizzando la metodica 'lyse-wash' su cellule CD3 attivate isolate da donatori sani. I dati ottenuti supportano la premessa che questi reagenti sono equivalenti nella loro reattività con i linfociti del sangue periferico. I valori sono espressi come % della conta totale dei linfociti (vedi tabella).

Reagente	n	% media positiva	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD25 FITC	10	45,64	8,61	18,87	IQP-125F
CD25 R-PE	10	47,86	8,02	16,75	IQP-125R

Limitazioni

- 1 Coniugati con fluorocromi più luminosi, quali PE e APC, presenteranno una maggiore separazione rispetto a coniugati con altri fluorocromi come FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, il calcolo della percentuale positiva per un determinato marcatore può essere influenzato dalla scelta del fluorocromo.
- 2 Può interferire con il riconoscimento degli antigeni bersaglio da parte di questo reagente. Sarà, quindi, necessario tenerne conto quando vengono analizzati campioni di pazienti sottoposti a questo tipo di trattamento. 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, devono acquisire familiarità con le caratteristiche di ciascun anticorpo in relazioni ai marcatori combinati sia in campioni normali che non.
- 4 I dati relativi all'attività del reagente si basano su campioni di sangue trattato con EDTA. L'attività del reagente può essere influenzata dall'utilizzo di altri anticoagulanti.

Reagenti e altri materiali necessary non forniti

- 1 Citometro a flusso
- 2 Provetta per Citometria a flusso usa e getta con tappo in polistirene, 12 x 75-mm
- 3 Micropipette con puntali usa e getta
- 4 Vortex
- 5 Centrifuga
- 6 IQ Lyse – soluzione di lisi degli eritrociti (IQP-199)
- 7 IQ Starfiqs – soluzione di fissaggio e permeabilizzazione (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 - Metodica per citometria a flusso per l'uso con anticorpi monoclonali purificati

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (circa 10⁶ leucociti) ad una provetta di reagente da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per l'esecuzione di 1 test.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 10 µl di anticorpo monoclonale purificato*. Miscelare la provetta su vortex per garantire un'accurata miscelazione tra anticorpo e cellule.
3. Incubare la provetta al buio per 15 minuti a temperatura ambiente.
4. Lavare le cellule marcate aggiungendo 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina, miscelare su vortex e centrifugare (2 min a 1000 x g.) ed eliminare il surnatante.
5. Aggiungere alla provetta 50 µl di una 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. Miscelare su vortex e incubare al buio per 15 minuti a temperatura ambiente.
7. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
8. Incubare al buio per 10 minuti a temperatura ambiente.
9. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
10. Centrifugare la sospensione di cellule per 2 minuti a 1000 x g.
11. Eliminare il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS**.
12. Analizzare tramite citometria a flusso entro 4 ore (in alternative, le cellule possono essere fissate con 0,05% di formalina in soluzione salina tamponata, per analisi da eseguire il giorno successive. Alcuni antigeni vengono distrutti subito al momento della fissazione, è quindi necessario tenerne conto 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 (circa 10⁶ leucociti) ad una 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 coniugato*. Miscelare su vortex per garantire un'accurata miscelazione tra 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 all'uso) e miscelare immediatamente.
5. Incubare al buio per 10 minuti a temperatura ambiente.
6. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
7. Centrifugare la sospensione di cellule marcate per 2 minuti a 1000 x g.
8. Eliminare il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS**.
9. Analizzare tramite citometria a flusso entro 4 ore (in alternative, le cellule possono essere fissate con 0,05% di formalina in soluzione salina tamponata, per analisi da eseguire il giorno successive. Alcuni antigeni vengono distrutti subito al momento della fissazione, è quindi necessario tenerne conto 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 (circa 10⁶ leucociti) ad una provetta di reagente da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
Per combinazioni di Ig anti-kappa e/o anti-lambda vedere la nota applicativa sottostante.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 20 µl di combinazione di anticorpi monoclonali coniugati*.
3. Miscelare la provetta su 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 all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare al buio per 10 minuti a temperatura ambiente.
7. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
8. Centrifugare la sospensione di cellule marcate per 2 minuti a 1000 x g.
9. Eliminare il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS**.
Analizzare tramite citometria a flusso entro 4 ore (in alternative, le cellule possono essere fissate con 0,05% di formalina in soluzione salina tamponata, per analisi da eseguire il giorno successive. Alcuni antigeni vengono distrutti subito al momento della fissazione, è quindi necessario tenerne conto nel caso si ricorra a questa alternativa)).

* Appropriati campioni di controllo di isotipo Ig di topo dovranno sempre essere inclusi per qualsiasi studio di identificazione

** PBS: soluzione salina di tampone fosfato, pH 7.2

Nota applicativa per combinazioni di Ig anti-kappa e/o anti-lambda

Aggiungere 2 ml di PBS contenente lo 0.001% (v/v) di Eparina (**preiscaldata a 37 °C**) alla sospensione cellulare
Miscelare su vortex, centrifugare (2 min a 300x g) ed eliminare il surnatante
Ripetere il 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 come fiala da 100 test (1 ml) oppure da 50 test (0.5 ml) per colorazioni singole e come fiala da 50 test (1 ml) per combinazioni doppie o triple. Sono forniti in 0.01 M sodio fosfato, 0.15 M NaCl; pH 7.3, 0.2% BSA, 0.09% sodio azide (NaN₃). Conservare le fiale a 2-8 °C. Gli anticorpi monoclonali devono essere protetti dall'esposizione prolungata alla luce. I reagenti sono stabili per il periodo indicato in etichetta, se conservati correttamente.

Garanzia La sola garanzia offerta è di conformità per quantità e contenuti indicate sull'etichetta al momento della fornitura. Non vengono concessi altri tipi di garanzia, espressa o non espressa, che esulino dalla descrizione riportata sull'etichetta del prodotto. IQ Products non si ritiene responsabile di eventuali danni alla proprietà, alle persone o alle 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. I 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'utilizzo è consentito solo a personale specializzato.

Riferimenti bibliografici

1. Barclay, A.N., et al. 1997. The Leukocyte Antigen FactsBook. Academic Press. London
 2. Waldman, T.A., 1991 J.Biol.Chem. 266. 2681-2684
 3. Callard, R.E., et al., 1994. The Cytokine FactsBook. Academic Prss. London
 4. Knapp, W., et al., eds. 1990. Leukocyte Typing IV. 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
 Orders orders@iqproducts.nl
 www.iqproducts.nl