

## FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

### Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

#### CD1a

PURE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-126P	▽	100 tests		<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-126P50	▽	50 tests
FITC	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-126F	▽	100 tests		<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-126F50	▽	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-126R	▽	100 tests		<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-126R50	▽	50 tests



**Dispositivo medico-diagnostico in vitro**  
**Da usare esclusivamente nella ricerca**



#### Descrizione

**Clone** MCD1a

**Isotipo** murino IgG1

**Specificità** MCD1a riconosce la parte più ampia (49 kDa) delle tre varianti della catena pesante del CD1, designata come CD1a.

#### Distribuzione dell'antigene

MCD1, produce IgG1 specifiche per l'antigene CD1a espresso sulla corticale dei timociti umani, sulle cellule dendritiche nei linfonodi periferici, sulle cellule di Langerhans nei tessuti normali, displastici e neoplastici.

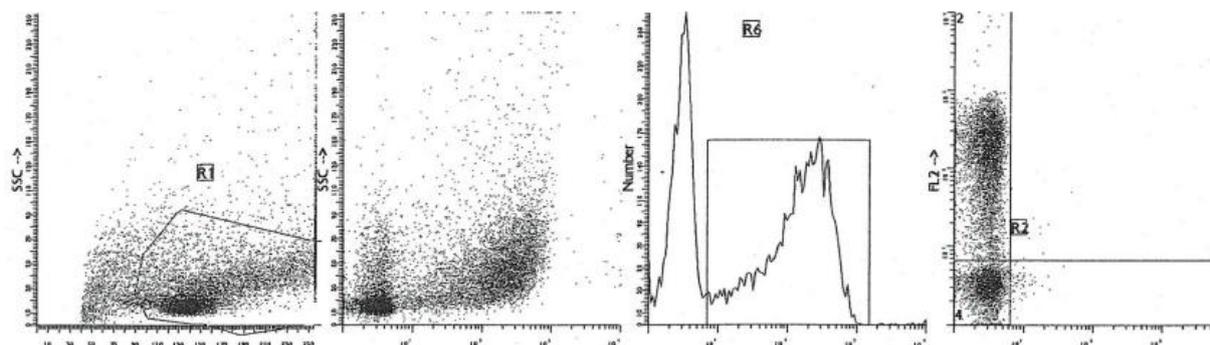
**Riepilogo** MCD1a reagisce con un polipeptide di 49 kD associato con b2-microglobulina sui timociti umani corticali, sulle cellule dendritiche e sulle cellule di Langerhans. Esso potrebbe anche essere espresso su alcune leucemie e linfomi a cellule T. Gli anticorpi non reagiscono con linfociti T e B di sangue periferico, con monoliti, con cellule mononucleari di midollo osseo normale, o linfociti normali tonsillari T e B.

**Applicazioni** MCD1a può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e di midollo osseo, o in immunistochemica utilizzando il citospot o sezioni di tessuto congelato. MCD1a viene utilizzato come marcatore delle cellule di Langerhans in tessuti normali, displastici e neoplastici. Viene anche utilizzato in citometria a flusso per l'identificazione e la quantificazione di cellule T precoci nel sangue e per la classificazione delle leucemie a cellule T (es.T-ALL) e linfomi che si sono generati dallo stadio II dei timociti. CD1 ha un dominio di organizzazione simile a quello del MHC Class I e la sua espressione è inversamente correlata con quella del TCR e MHC Class I.

**Utilizzo** Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per la colorazione diretta di immunofluorescenza di tessuti umani per analisi di citometria utilizzando 10 µl/10<sup>6</sup> leucociti per singola colorazione e 20 µl/10<sup>6</sup> leucociti nel caso di doppia e tripla combinazione. Nel caso le applicazioni variassero, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere risultati ottimali.

#### Dati Representativi

Analisi di citometria a flusso sono illustrati qui di seguito colorando con gli anticorpi monoclonali, clone MCD1 (CD1), un campione di cellule NOLT4. la colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con FITC con 100 µl di sospensione cellulare.



## Riproducibilità

Gli anticorpi monoclonali prodotti da IQ Products vengono testati in citometria a flusso utilizzando la metodica 'lyse-wash' su un campione di cellule NOLT4. I dati ottenuti supportano la premessa che questi reagenti sono equivalenti nella loro reattività alle cellule nolt4. I valori sono espressi in termini di % del conto totale (vedi tabella).

Reagente	% media positiva	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD1a FITC	97,79	0,82	0,84	IQP-126F
CD1a R-PE	98,32	0,72	0,73	IQP-126R

## 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 richiesti 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 per eritrociti (IQP-199)
7. IQ Starfiqs – soluzione permeabilizzante e fissante (IQP-200)
8. PBS (soluzione salina di tampone fosfato)
9. Eparina 1%
10. 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 100µl di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10<sup>6</sup> 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 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)<sub>2</sub> 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 o APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10<sup>6</sup> 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\*. 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 100µl di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10<sup>6</sup> leucociti) ad una 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 20 µl di combinazione di anticorpi monoclonali coniugati\*
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 isotopo Ig di topo saranno sempre inclusi in qualsiasi studio di identificazione  
\*\* PBS: Soluzione salina di tampone fosfato, pH 7.2

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

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

Agitare con Vortex, centrifugare(2 min at 300x g) e scartare il surnatante.  
Ripetere questo passaggio 2 volte.

Risospingere le cellule del sangue del pellet in 100 µl PBS contenente 0.001% (v/v) di eparina



**Manipolazione e conservazione**

Gli anticorpi sono forniti come fiala per 100 tests (1 ml) per combinazioni singole o fiale per 50 tests (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, 0.09% sodio azide (NaN<sub>3</sub>). 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. Knapp, W., et al., 1989. Leukocyte Typing IV, p 252. Oxford University Press. N.Y.
2. Wood, G.S., et al., 1985. Am. J. Pathol., 120, 371
3. Thomas, J.A., 1982, J. Clin. Pathol., 35: 327
4. Stein, H., 1982, Int. J. Cancer, 30: 445
5. Foon, K. A. and Todd, III, R.F., 1986. Blood, 68, 1
6. Porcelli, S.A. 1995. Adv. Immunol., 59. 1-98
7. Martin, L.H., et al. 1987. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 84, 9189

## 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)
	Rappresentante autorizzato per la Svizzera

		Label - tandem purified material	Ex -max (nm)	Em -max (nm)
P	PURE	FITC	-	-
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



**Casus Switzerland GmbH**  
Hinterbergstrasse 49  
Steinhausen, 6312, Switzerland

 +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)