

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD7

| | | | | | |
|------|-----|-----|----------|---|-----------|
| PURE | RUO | REF | IQP-127P | ▽ | 100 tests |
| FITC | IVD | REF | IQP-127R | ▽ | 100 tests |
| R-PE | IVD | REF | IQP-127R | ▽ | 100 tests |



Dispositivo medico-diagnostico in vitro
Ad esclusivo uso di ricerca



Descrizione

Clone B-B7

Isotipo murino IgG2b

Specificità B-B7 riconosce un antigene umano da 40 kD sulle cellule T ed NK.

Distribuzione dell'antigene

CD7 è espresso sulle cellule ematopoietiche pluripotenti, sulla maggior parte dei Timociti umani e un maggior subset delle cellule T ed NK di sangue periferico. B-B7 reagisce con tutte le cellule CD8+, con circa il 90% delle cellule CD4+ e con la maggior parte delle cellule NK. E' debolmente reattivo con i Monociti e non reagisce con i Granulociti o le cellule B.

Riepilogo

CD7 è il più precoce marcatore antigenico espresso sulla linea T, essendo stato trovato sui precursori delle cellule T nel fegato fetale e nel torace antecedente alla colonizzazione timica e nel timo e nel midollo osseo. La funzione dell'antigene CD7 è sconosciuta e il ligando naturale non è stato ancora identificato. Gli anticorpi monoclonali CD7 co-stimolano la proliferazione delle cellule T e induce i messaggeri secondari, mentre il ricombinante solubile CD7 si è visto che inibisce la proliferazione antigene-specifica e una reazione di linfociti miscelati

Applicazioni

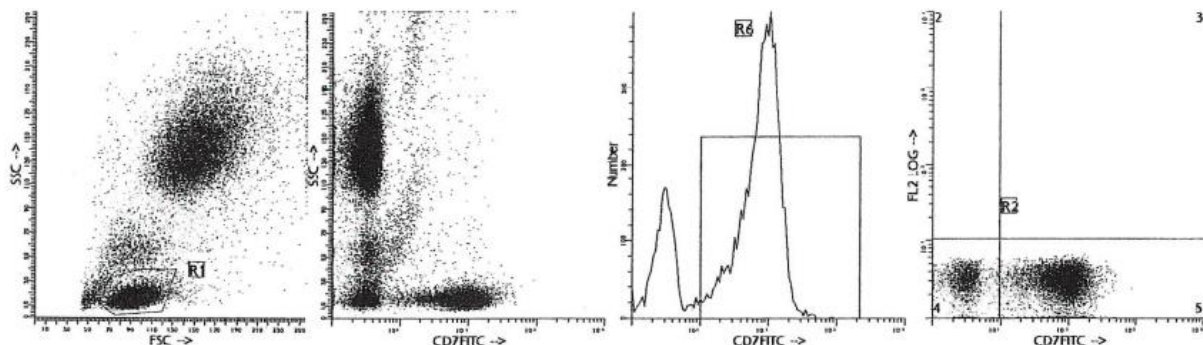
B-B7 può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e di midollo osseo o in immunistochemica utilizzando cytopspots o sezioni di tessuto congelato. CD7 è un marcatore per le cellule staminali pluripotenti delle leucemie e delle cellule T delle leucemie linfocitiche acute (T-ALL). L'antigene è frequentemente perso sul linfoma a larghe cellule T. L'antigene CD7 potrebbe anche essere espresso sulle cellule delle leucemie mieloblastiche. Esso è utile per l'identificazione delle cellule T nei tessuti e nella diagnosi delle neoplasie a cellule T in immunistochemica. B-B7 è anche utilizzato per analizzare subset di cellule T ed NK e per la caratterizzazione di T-ALL ed altre leucemie a cellule T linfoblastiche attraverso la citometria a flusso.

Utilizzo

Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazioni di immunofluorescenza diretta di tessuti umani per analisi di citometria a flusso utilizzando 10 µl/10⁶ leucociti per singola marcatura e 20 µl/10⁶ leucociti in caso di doppie e triple combinazioni. Se le applicazioni variassero, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere risultati ottimali.

Dati Rappresentativi

La colorazione di anticorpi monoclonali con il clone B-B7 (CD7) è illustrata da analisi di citometria a flusso su cellule di sangue normale. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con FITC con 100 µl di campione di sangue.



Riproducibilità

Gli anticorpi monoclonali prodotti da IQ Products sono stati testati in citometria utilizzando la metodica 'lyse-wash' su sangue intero da donatori sani. 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 dei linfociti totali (vedi tabella).

| Reagente | n | Mean % positive | S.D. | % CV | Codice prodotto |
|----------|----|-----------------|------|------|-----------------|
| CD7 FITC | 10 | 80.79 | 4.60 | 5.69 | IQP-127F |
| CD7 R-PE | 10 | 79.01 | 4.98 | 6.31 | IQP-127R |

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 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)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 o APC)

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).

*A campioni di controllo di isotipo Ig di topo 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

Risospesondere 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) per combinazioni singole 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. Haynes, B.F., et al. 1989. Immunol. Today, 10. 87-91
 2. Schanberg, L.E. et al. 1995 J. Immunol., 155, 2407-2418
 3. Leta, E., et al. 1995 Cell Immunol., 165. 101-109
 4. Ward, S., et al., 1995 Eur. J. Immunol., 25. 502-507
 5. Barclay A.N., et al 1997 The Leucocyte Antigen Factsbook. Academic Press. London
-

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 |
| D | Dy-410 | Violet Dye 410 | 405 | 460 |
| A | APC | APC | 595, 633, 635, 647 | 660 |
| PC | PerCP | PerCP | 488, 532 | 678 |



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