

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD86

Pure	RUO	REF	IQP-128P	▽	100 tests
FITC	RUO	REF	IQP-128F	▽	100 tests

RUO
Ad esclusivo uso di ricerca


Descrizione

Clone

BU63

Isotipo

Murino IgG1

Specificità

Clone BU63 produce immunoglobuline di topo IgG1, riconosce l'antigene di superficie umano CD86, conosciuto anche come B7-2. CD86 antigene è espresso come una glicoproteina di membrana da 70 kD.

Distribuzione antigenica

CD86 è espressa dalle cellule dendritiche interdigitate nella zona T degli organi linfoidi secondari e a livelli più bassi dalle cellule di Langerhans e nelle cellule dendritiche del sangue periferico. CD86 è espressa sulle cellule B memori e sulle cellule B del centro germinale, I centrociti esprimono più CD86 che centroblasti. Piccole sIgD+, IgM+ cellule B delle tonsille non esprimono CD86 ma possono essere indotte a esprimere alti livelli di questa molecola sull'attivazione in vitro attraverso le loro immunoglobuline di superficie, CD40 o molecole di MHC classe II. CD86 si lega al CD28 e CD152. CD86, come CD80 lega il CD28 con una più bassa avidità che il CD152. CD86 lega CD152 con una più bassa avidità che CD80. CD86 è strutturalmente correlata al CD80 che è stato "clusterato" al 5° Workshop Internazionale di Human Leukocyte Differentiation Antigens.

Sommario

CD86 agisce come uno dei ligandi per le cellule T costimolatorie della molecola CD28. CD86 si lega anche al CD152, una molecola che è stata riconosciuta a trasdurre un segnale negativo per le cellule T (vedi anche CD80). Il blocco del CD28 che si lega al CD86 attraverso gli anticorpi CD86 è stato riportato condizionare l'espressione del CD28 sulle cellule T attraverso le cellule Th1, laddove il blocco del legame del CD28 al CD80 polarizza le cellule T in cellule Th2. CD80 e CD86 sembrano avere effetti simili ma non identici sulle cellule che esprimono CD28. CD86 è anche stato espresso in bassi livelli dai monociti e questa espressione è aumentata dalle colture con IFN-γ. Le cellule endoteliali e le cellule T attivate dal legame CD3 si è visto che esprimono anche CD86. Molti cloni di cellule T esprimono sia CD80 che CD86. L'espressione è incrementata da IL-4 (cellule B) che IFN-γ (monociti del sangue periferico) e decrementata da IL-10 (cellule dendritiche del sangue periferico).

L'anticorpo monoclonale CD86, clone BU-63, può essere utilizzato in citometria a flusso.

Applicazioni

Utilizzo

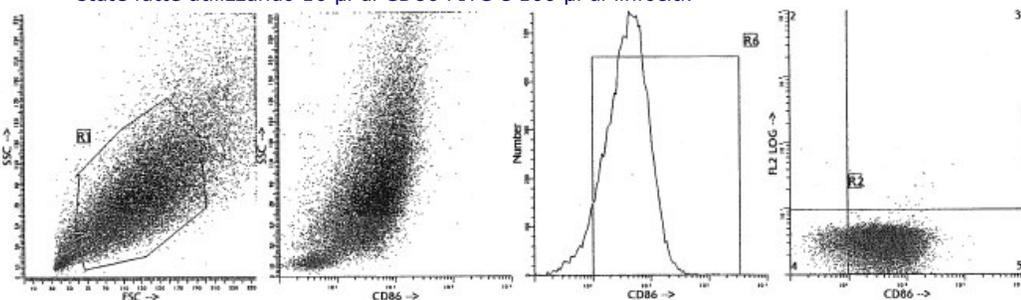
Tutti questi reagenti sono formulati per la colorazione di immunofluorescenza diretta di tessuto umano per analisi in citometria a flusso: per colorazioni singole utilizzare 10 µl/10⁶ leucociti, per combinazioni doppie e triple utilizzare 20 µl/10⁶ leucociti. Poiché le applicazioni possono variare, l'utilizzatore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

HLDA Workshop

5th International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens, Boston (1993).

Dati Rappresentativi

Il clone Bu-63 (CD86) è stato analizzato in citometria a flusso utilizzando linfociti umani attivati che erano stati isolate da un campione di sangue di un uomo volontario. Colorazioni dirette sono state fatte utilizzando 10 µl di CD86 FITC e 100 µl di linfociti.



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 materiali richiesti ma 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)

Protocollo di colorazione di immunofluorescenza e 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 temperature 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 temperature 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**.
10. 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 (**preriscaldata 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 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 (NaN₃). 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, espresse 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 Sodio Azide. Questo prodotto chimico è velenoso e pericoloso. La manipolazione dovrebbe essere fatta solo da personale esperto.

Referenze

1. Seino, K., et al., 1995, CD86 on endothelial cells co-stimulates allogeneic CD4+ T cells. *Int. Immunol* 7 : 1331
2. Kuchroo, V.K., et al, 1995, CD80 and CD86 costimulatory molecules activated differentially the Th1/Th2, *Cell* 80:707
3. Linsley, P.S., et al., 1994, CD80 and CD86 bind with similar avidities but distinct kinetics to, *Immunity* 1: 793
4. Prabhu Das, et al., 1995, Reciprocal expression of co-stimulatory molecules, *Eur. J. Immunol.* 25: 207
5. Ueda, Y., et al., 1995, Both CD28 ligands CD80 and CD86 activate phosphatidylinositol, *Int. Immunol.* 7: 957
6. Graves, M.F., et al., 1995, In *Leukocyte Typing V*, Oxford Univ. Press, Oxford

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

IQProducts
bright fluorescence