

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD45RB

PURE	RUO	REF	IQP-140P	▽	100 tests		REF	IQP-140P50	▽	50 tests
R-PE	RUO	REF	IQP-140R	▽	100 tests		REF	IQP-140R50	▽	50 tests

RUO
Ad esclusivo uso di ricerca


Descrizione

Clone MT4

Isotipo IgG1

Specificità L'MT4 reagisce con le isoforme da 190, 205 e 220 kD dell'antigene di superficie cellulare CD45RB. L'espressione più brillante del CD45RB sulle cellule T correla con una maggiore proliferazione e produzione di IFN-g rispetto all'espressione del CD45RB dim. Il 90% dei linfociti sono CD45RB positivi.

Distribuzione dell'Antigene

Variazioni nell'espressione di CD45RB può discriminare tra cellule Th1 e Th2 (CD45RB-brillante e CD45RB-dim rispettivamente [8]).

Riepilogo

La molecola CD45, anche nota come Antigene Comune dei Leucociti (LCA) o antigene T200, comprende diverse glicoproteine con dimensioni variabili tra 180 e 240 kD [1,2]. L'espressione del CD45 è stata rilevata in tutte le cellule ematopoietiche, quali granulociti, monociti, macrofagi e linfociti tranne le cellule eritroidi mature. L'identificazione delle diverse isoforme permette di distinguere, per esempio, tra cellule T native e cellule T della memoria, aspetto importante nei pazienti affetti da immunodeficienza e malattie autoimmuni.

Applicazioni

Gli anticorpi monoclonali CD45RA (clone MB1), CD45RB (clone MT4), CD45RO (clone UCHL1), e CD45RC (clone MT2) vengono utilizzati in citometria a flusso e immunocistochemica su sezioni di tessuto congelato e paraffinato. Gli anticorpi monoclonali che identificano tutte le isoforme di CD45 (clone ML2) sono state "clusterizzate" come CD45. Altri anticorpi monoclonali identificano gli epitopi ristretti (CD45R), quindi le isoforme CD45RO, CD45RA, CD45RB e CD45RC del complesso CD45. Questa espressione ristretta è correlata con la funzione delle molecole e mostra un'espressione diversa tra i diversi sottotipi di cellule linfoidi.

La loro attività funzionale può essere correlata con l'induzione dell'attività di soppressione o citotossica e il processo di attivazione. Caratteristiche degli antigeni CD45R.

Utilizzo

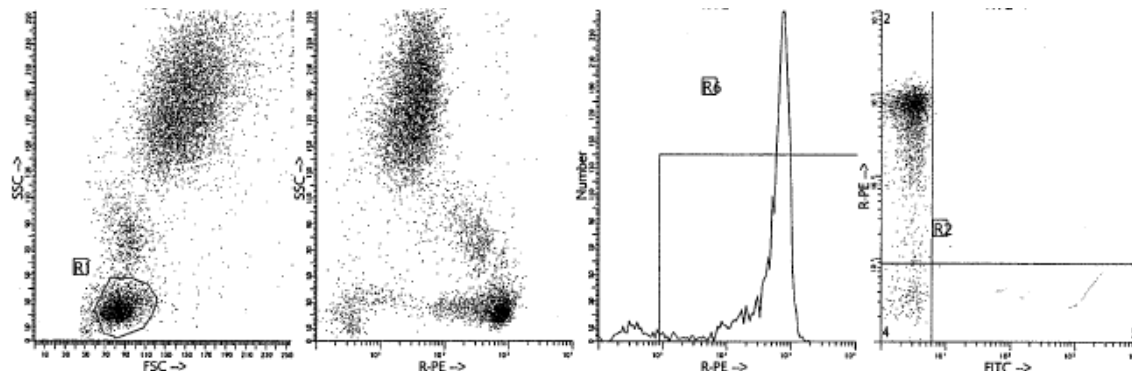
Tutti questi reagenti sono formulati per la colorazione di immunofluorescenza diretta di tessuto umano per analisi in citometria a flusso per colorazioni singole utilizzare 10 µl/10⁶ leucociti, per combinazioni doppie e triple utilizzare 20 µl/10⁶ leucociti. Poiché le applicazioni possono variare, l'utilizzatore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

Workshop HLDA

6° Workshop Leucocyte Antigen - Kishimoto et al., Eds., Oxford University Press (1998)

Dati Rappresentativi

Le analisi citofluorimetriche eseguite su normali cellule ematiche utilizzando gli anticorpi monoclonali CD45RB sono illustrate di seguito. E' stata fatta una colorazione diretta utilizzando 100 µl di anticorpo coniugato con R-PE e 100 µl di campione di sangue.



Limitazioni

1. Coniugati con fluorocromi più luminosi, quali PE e APC, presenteranno una maggiore separazione rispetto a coniugati con altre tinte 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. L'uso di anticorpi monoclonali nel trattamento di pazienti può interferire con il riconoscimento degli antigeni bersaglio da parte di questo reagente. Sarà necessario tenerne conto quando vengono analizzati campioni 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 utilizzatori dovranno acquisire familiarità con le caratteristiche di ciascun anticorpo in relazione a marcatori combinati in campioni normali e non.
4. I dati relativi all'attività del reagente si basano su sangue trattato con EDTA. L'attività del reagente può essere influenzata dall'uso di altri anticoagulanti.

Reagenti e materiale necessario non fornito

1. Citometro a flusso
2. Provette monouso per citometria a flusso 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 di Eritrociti (IQP-199)
7. IQ Starfix – soluzione di fissaggio e permeabilizzazione (IQP-200)
8. PBS (soluzione salina di tampone fosfato)
9. Soluzione 1% paraformaldeide in PBS (conservare a 2-8 °C in vetro ambrato per un massimo di una 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 (circa 10⁶ leucociti) ad una provetta di reagente da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per l'esecuzione di un test.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 10 µl di anticorpo monoclonale purificato*. Miscelare su vortex per garantire un'accurata miscelazione di anticorpo e cellule.
3. Incubare al buio per 15 minuti a temperature ambiente.
4. Lavare le cellule marcate aggiungendo 2 ml di PBS contenente lo 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 diluizione 1:10 di of IQ Products F(ab)₂ Rabbit Anti Mouse IgG coniugato con fluorocromo, [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] in PBS contenente lo 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 temperature 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 marcate 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 tramite 0.05% di formalina in soluzione salina tamponata per analisi da eseguire il giorno successivo. Alcuni antigeni vengono distrutti al momento del fissaggio e ciò dovrà essere tenuto in considerazione nel caso si decida di ricorrere a questa alternativa).

- B - Metodo di citometria a flusso per anticorpi monoclonali coniugati (FITC, R-PE, Cy-Q 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 l'esecuzione di un test.
2. Aggiungere a ciascuna provetta 10 µl di anticorpo monoclonale coniugato*. Miscelare la provetta su vortex per garantire un'accurata miscelazione tra anticorpo e cellule.
3. Incubare al buio per 15 minuti a temperature ambiente.
4. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
5. Incubare al buio per 10 minuti a temperature 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 tramite 0,05% di formalina in soluzione salina tamponata per analisi da eseguire il giorno successivo. Alcuni antigeni vengono distrutti al momento della fissazione e ciò dovrà essere tenuto in considerazione in 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 10^6 leucociti) ad una provetta di reagent da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per l'esecuzione di 1 test.
Per combinazioni con 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 su vortex per garantire un'accurata miscelazione tra anticorpo e cellule.
4. Incubare al buio per 15 minuti a temperature ambiente.
5. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare al buio per 10 minuti a temperature 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 tramite 0,05% di formalina in soluzione salina tamponata per analisi da eseguire il giorno successivo. Alcuni antigeni vengono distrutti al momento della fissazione e ciò dovrà essere preso in considerazione nel caso si ricorra a questa alternativa).

* *Adeguati campioni di controllo di isotipo Ig di topo dovrebbero essere inclusi in 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 alla sospensione cellulare 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina (**preriscaldata a 37°C**)

Miscelare su vortex, centrifugare (2 min a 300x g) ed eliminare il surnatante
Ripetere il passaggio 2 volte

Risospendere 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) e per 50 test (0.5 ml) per combinazioni singole, oppure fiale da 50 test (1 ml) per combinazioni doppie o triple. Sono forniti in 0.01 M di fosfato di sodio, 0.15 M NaCl; pH 7.3, 0.2% BSA, 0.09% sodio azide (NaN_3). Conservare la fiala a 2-8 °C. Gli anticorpi monoclonali dovranno 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 a quantità e contenuto indicate 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 si riterrà responsabile di Danni a proprietà, persone 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. Hall, P.A., et al. 1987. J. Clin. Pathol. 40: 151
 4. Poppema, S., et al 1987. Am. J. Pathol. 127: 418
 5. West, K.P., 1986. J. Pathol. 150: 89
 6. Young, J.L., 1997. Eur. J. Immunol. 27: 2383
 7. Grotjahn, C., et al., 1998, p.446. Leucocyte Antigen Workshop VI.1998. Kishimoto et al., eds. Oxford University Press
 8. Poppema, S., et al., 1996. Leukemia and Lymphoma, 20, 217-222
 9. Visser, L., & Poppema, S., in Leucocyte Typing VI. 1998. 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