

## FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

### Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

#### CD45RO

PURE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-141P	▽	100 tests		<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-141P50	▽	50 tests
FITC	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-141F	▽	100 tests		<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-141F50	▽	50 tests
R-PE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-141R	▽	100 tests		<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-141R50	▽	50 tests

RUO

**Ad esclusivo uso di ricerca**



#### Descrizione

#### Clone

UCHL1

#### Isotipo

Murino IgG2a

#### Specificità

CD45RO determina l' epitopo ristretto (CD45RO) isoforma del complesso CD45 . CD45RO riconosce le cellule T memoria e attivate nel sangue periferico, T cellule tumorali e risulta dall'attivazione delle isoforme del CD45RA .

#### Distribuzione antigenica

CD45RO reagisce con I linfociti nelle aree delle cellule T dei normali tessuti linfoidi. L'espressione del CD45RO si trova su tutte le cellule emopoietiche, es. i granulociti, i monociti, i macrofagi e i linfociti, eccetto le cellule eritroidi mature.

#### Sommario

La molecola del CD45 è anche conosciuta come Leukocyte Common Antigen (LCA) o antigene T200 , ed è formata da differenti glicoproteine con peso molecolare compreso tra 180-240 kD.

#### Applicazioni

La determinazione delle differenti isoforme può distinguere, per esempio, tra cellule T naïve e cellule T memory , che è d'interesse nei pazienti con immunodeficienze e malattie autoimmuni. Questa espressione ristretta è correlata con la funzione delle molecole e mostra differente espressione tra sottotipi differenti di cellule linfoidi. La loro attività funzionale potrebbe essere correlate all'induzione dell'attività soppressoria e citotossica, ed ai processi di attivazione.

#### Utilizzo

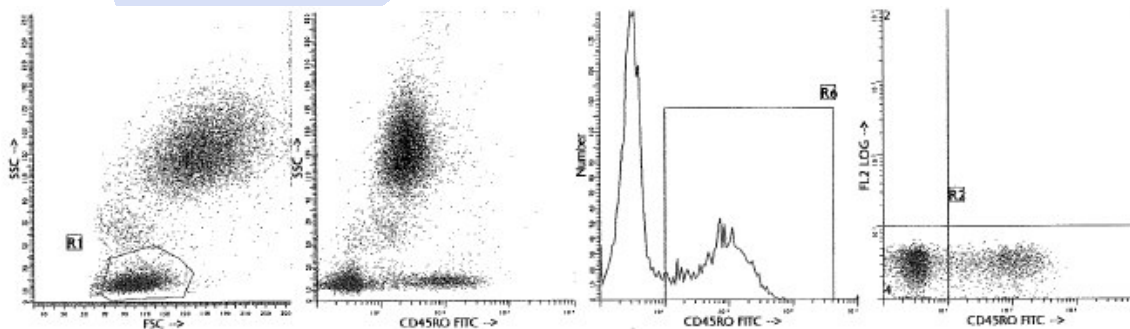
CD45RO (clone UCHL1) può essere utilizzato in citometria a flusso o in immunocitochimica utilizzando citospot, o sezioni di tessuto congelato o incluso in paraffina.

#### HLDA Workshop

Leukocyte Antigen Workshop VI.1998.

#### Dati rappresentativi

Analisi citofluorimetrica degli anticorpi monoclonali CD45RO è illustrata nei seguenti citogrammi. 100 µl di cellule di sangue umano normale sono colorate con 10 µl di anticorpo monoclonale coniugato con FITC.



## Limitazioni

1. Coniugati con fluorocromi più brillanti, quali PE e APC, avranno una separazione maggiore di quelli con coloranti quali FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, la percentuale di cellule positive utilizzando un marker selezionato può essere influenzato dalla scelta del fluorocromo.
2. L'utilizzo di anticorpi monoclonali in pazienti in trattamento può interferire con il riconoscimento dell'antigene target da parte di questo reagente. Questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando i campioni sono analizzati e provengono da pazienti trattati con terapia monoclonale. IQ Products non ha caratterizzato l'effetto della presenza di anticorpi terapeutici sulla prestazione di questo reagente.
3. I reagenti possono essere utilizzati in differenti combinazioni, comunque i laboratori necessitano di diventare familiari nelle caratteristiche di prestazione di ogni anticorpo in relazione con marcatori combinati in campioni normali e anormali.
4. Il dato della prestazione del reagente è basato su campione di sangue trattato con EDTA. La prestazione del reagente può essere influenzata dall'uso di altri anticoagulanti.

## Reagenti e materiali richiesti ma non forniti

1. Citofluorimetro
2. Provette tappate 12 x 75-mm in polistirene per eseguire il test.
3. Micropipette con puntali monouso.
4. Miscelatore Vortex
5. Centrifuga
6. IQ Lyse – soluzione lisante per eritrociti (IQP-199)
7. IQ Starfiqs –soluzione fissativa e permeabilizzante (IQP-200)
8. PBS (tampone fosfato salino)
9. Soluzione all'1% di paraformaldeide in PBS (conservare a 2-8 °C in vetro scuro fino ad 1 settimana)

## Protocollo di colorazione di immunofluorescenza e lisi

### - A - Metodica di citometria a flusso per l'utilizzo di anticorpi monoclonali purificati

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (circa 10<sup>6</sup> leucociti) nella provetta da 5 ml . Il contenuto di ogni tubo è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere ad ogni tubo 10 µl di anticorpo monoclonale purificato \*.Agitare con il Vortex la provetta per assicurare una miscelazione dell'anticorpo con le cellule.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperature ambiente al buio.
4. Lavare le cellule marcate aggiungendo 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) Eparina, agitare con vortex e centrifugare (2 min 1000 x g.) e scartare il surnatante.
5. Aggiungere 50 µl di IQ Products F(ab)<sub>2</sub> Rabbit Anti Mouse IgG coniugato fluorescente diluito 1:10, [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] in PBS contenente 0.001% (v/v) Eparina alla provetta.Si raccomanda di proteggere la provetta dalla luce.
6. Miscelare con il vortex e incubare per 15 minuti a temperature ambiente ed al buio.
7. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronta all'uso) e miscelare immediatamente.
8. Incubare per 10 minuti a temperature ambiente e al buio.
9. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
10. Centrifugare la sospensione di cellule coniugate per 2 minuti a 1000 x g.
11. Rimuovere il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS\*\*.
12. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternative, le cellule dovrebbero essere fissate con 0.05% di formaldeide in tampone salino per analizzarle il giorno dopo. Alcuni antigeni sono subito distrutti dalla fissazione e questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si utilizza questa alternativa).

### - B - Metodica 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 10<sup>6</sup> leucociti) nella provetta da 5 ml . Il contenuto di ogni tubo è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere ad ogni provetta 10 µl di anticorpo monoclonale coniugato \*.Agitare con il Vortex la provetta per assicurare la miscelazione delle cellule con l'anticorpo.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperature ambiente e al buio.
4. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
5. Incubare per 10 minuti a temperature ambiente al buio.
6. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio .
7. Centrifugare la sospensione cellulare coniugata per 2 minuti a 1000 x g.
8. Rimuovere il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS\*\*.
9. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternative, le cellule dovrebbero essere fissate con 0.05% di formaldeide in tampone salino per analizzarle il giorno dopo. Alcuni antigeni sono subito distrutti dalla fissazione e questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si utilizza questa alternativa).

**- C - Metodica di citometria a flusso per l'utilizzo di doppie e triple combinazioni**

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (circa 10<sup>6</sup> leucociti) nella provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.  
**Per combinazioni con Ig anti-kappa e/o anti-lambda vedi nota applicativa qui sotto.**
2. Aggiungere ad ogni provetta 20 µl di combinazione di anticorpi monoclonali coniugati\*.
3. Agitare la provetta con il Vortex per assicurare la miscelazione degli anticorpi con le cellule.
4. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente e al buio.
5. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199pronta all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente e al buio.
7. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
8. Centrifugare la sospensione cellulare coniugata per 2 minuti a 1000 x g.
9. Rimuovere il surnatante e risospendere le cellule in 200 µl di PBS\*\*.
10. Analizzare al citofluorimetro entro 4 ore (in alternative, le cellule dovrebbero essere fissate con 0.05% di formaldeide in tampone salino per analizzarle il giorno dopo. Alcuni antigeni sono subito distrutti dalla fissazione e questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si utilizza questa alternativa).

\* *Approprii campioni di controllo isotipico mouse Ig dovrebbero essere sempre inclusi in ogni studio di coniugazione*

\*\* *PBS: Tampone fosfato salino, 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 in fiala da 0,5ml per 100 test per la singola coniugazione, o per 50 tests (1 ml) per le fiale di doppia e tripla combinazione. Essi sono forniti in sodio fosfato 0.01 M , 0.15 M di NaCl; pH 7.3, 0.2% BSA, 0.09% sodioazide (NaN<sub>3</sub>). Conservare le fiale a 2-8 °C. Gli anticorpi monoclonali dovrebbero essere protetti da esposizioni prolungate alla luce. I reagenti sono stabili per il periodo mostrato sull'etichetta della fiala quando conservati correttamente.

**Garanzia**

I prodotti venduti sono garantiti solo in conformità alla quantità e ai contenuti dichiarati in etichetta al tempo della spedizione al cliente. Non ci sono garanzie, espresso o implicite, che si estendono oltre alla descrizione dell'etichetta del prodotto. IQ Products non è responsabile per Danni alla proprietà, al 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 con le caratteristiche di un reagente standard. Il dato rappresentativo citometrico è incluso in questo foglio illustrativo..

**Attenzione** Tutti I prodotti contengono sodioazide. Questo prodotto chimico è velenoso e pericoloso. Dovrebbe essere manipolato solo da personale esperto.

**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. Path. 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, 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](mailto:marketing@iqproducts.nl)  
 Orders [orders@iqproducts.nl](mailto:orders@iqproducts.nl)  
 [www.iqproducts.nl](http://www.iqproducts.nl)

**Products**  
bright fluorescence