

## FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

### Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

#### CD14

PURE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-143P	▽	100 tests
FITC	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-143F	▽	100 tests
R-PE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-143R	▽	100 tests
APC	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-143A	▽	100 tests



**Da usare nella diagnostica in vitro**  
**Da usare esclusivamente nella ricerca**



#### Descrizione

<b>Clone</b>	UCHM1
<b>Isotipo</b>	Murino IgG2a
<b>Specificità</b>	CD14 (UCHM1) riconosce la glicoproteina umana CD14 di (55 kD)

#### Distribuzione dell'antigene

CD14 è espresso sulla maggior parte dei monociti (circa 80%) del sangue periferico, sui macrofagi e debolmente sui granulociti.

#### Riepilogo

Nel tessuto linfoide, UCHM1 reagisce con cellule quali monociti, come nella polpa rossa della milza e nella regione subcapsulare del timo. Forte reattività si trova sull'endotelio vascolare dei linfonodi, del fegato, debole reattività nel timo, nella milza e nelle tonsille e non reattività nel polmone, nel cervello, nella pelle e nel rene. CD14 è un recettore per il legame proteico LPS, e potrebbe essere coinvolto nella depurazione di patogeni dal sangue. CD14 (UCHM1) è reattivo con le cellule delle linee U937 (linfoma istiocitico), THP1- (probabilmente monocitico) e 15% di HL60 (debolmente su una linea cellulare promielocitica), ma non con K562 (linea cellulare della leucemia eritroide) o altre linee cellulari B o T.

#### Applicazioni

CD14 (UCHM1), può essere applicato in citometria a flusso e in immunisto chimica su sezioni di tessuto congelato. CD14 è utile per la determinazione dei monociti nel sangue periferico. CD14 è spesso utilizzato in combinazione con gli anticorpi CD45 (pan-leukocytes) per differenziazione di linfociti, granulociti e monociti nelle analisi di campioni di sangue periferico utilizzando il citofluorimetro. E' anche utilizzato nell'immunofenotipo di cellule in citometria a flusso, utilizzando una marcatura a tre colori per i campioni di lavaggi broncoalveolari BAL) CD15/CD14/CD45. Granulociti neutrofili colorano CD15++, CD45+ ma mostrano debole espressione di CD14. CD14 (UCHM1), è importante per le analisi leucemie acute monocitiche e per la maggior parte delle leucemie che sono UCHM1 positive. Un esempio è il vero linfoma istiocitico (THL), che esprime fortemente CD14 e un largo numero di marcatori di monociti che dipendono dallo stadio di maturazione dei monociti quali: CD11b, CD11c, CD13, CD15, CD33, CD36, CDw65, HLA-DR e MPO citoplasmatica.

#### Utilizzo

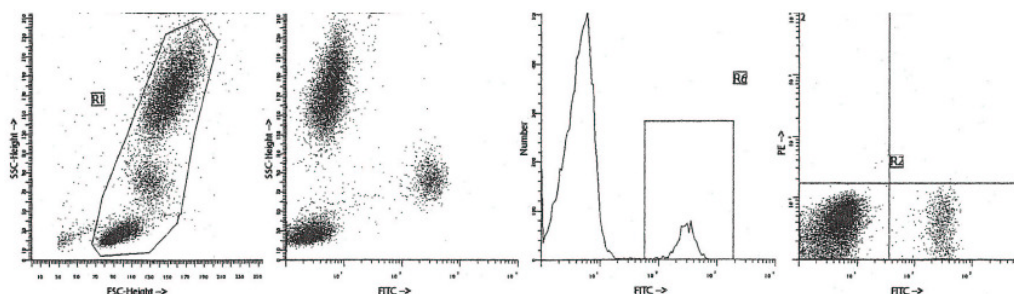
Tutti questi reagenti sono formulati per la colorazione di immunofluorescenza diretta di tessuto umano per analisi in citometria a flusso: utilizzare per singola colorazione 10 µl/10<sup>6</sup> di leucociti e 20 µl/10<sup>6</sup> di leucociti nel caso di doppie o triple combinazioni. Se le applicazioni variano, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere il risultato ottimale.

#### HLDA Workshop

6th Leukocyte Typing Workshop - Knapp, W., et al., Oxford University Press, New York (1989)

#### Dati Rappresentativi

Qui di seguito illustrati campioni di sangue normale marcati con anticorpo monoclonale CD14, clone UCHM1. Colorazione diretta è stata eseguita utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con FITC e 100 µl di campione di sangue.



## Riproducibilità

Gli anticorpi monoclonali prodotti da IQ Products vengono testati in citometria a flusso utilizzando la metodica 'lyse-wash' su un campione di sangue intero di donatori sani. I dati ottenuti supportano la premessa che questi reagenti sono equivalenti nella loro reattività con i linfociti di sangue periferico. I valori sono espressi in termini di % della conta dei linfociti totali (vedi tabella).

Reagente	n	% media positiva	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD14 FITC	9	5.61	1.32	23.64	IQP-143F
CD14 R-PE	9	5.63	1.36	24.12	IQP-143R
CD14 APC	9	6.11	1.48	24.22	IQP-143A

## 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 10<sup>6</sup> 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. 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 or APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero circa 10<sup>6</sup> 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 10<sup>6</sup> 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).

\* Adeguate campioni di controllo di isotipo 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

Risospesare 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) 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 (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. Beckstead, Jay H., Wood, Gary S., and Turner, R.R., 1984. Human Path. 15:9: 826-33
2. Dimitriu-Bona, A., Burmester, G.R., Waters, S.J., and Winchester, R.J., 1983. Human Mononuclear Phagocyte Differentiation Antigens. I. J. Immunol. 130: 145
3. Hogg, N., MacDonald, S., Slusarenko, M. and Beverley, P.C.L., 1984. Immunology. 53: 753-768
4. Herrmann, F., Komischke, B., Odenwald, E., and Ludwig, W.D., 1983. Acute Myeloid Leukemia and Acute Phase of Chronic Myeloid Leukemia. Blut. 47: 157
5. Linch, D.C., Allen, C., Beverley, P.C.L., Bynoe, A.G., Scott, C.S. and Hogg, N., 1984. Blood. 63: 566-573
6. Hogg, N. and Horton, M.A., 1987. In: Leucocyte Typing III 576-602, McMichael, A.J., et al., eds Oxford University Press, NY
7. Knapp, W., et al, 1989 Leucocyte Typing IV. White cell differentiation antigens. Oxford University Press, New York

## 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)