

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD34

PURE	RUO	REF	IQP-144P	▽	100 tests
FITC	IVD	REF	IQP-144F	▽	100 tests
R-PE	IVD	REF	IQP-144R	▽	100 tests
APC	IVD	REF	IQP-144R	▽	100 tests



Ad esclusivo uso di ricerca
Dispositivo medico-diagnostico in vitro



Descrizione

Clone	581
Isotipo	murino IgG1
Specificità	CD34 (clone 581) reagisce con l'antigene umano CD34. L'antigene CD34 è una proteina di membrana pesantemente glicosilata. Di funzione sconosciuta con nessuna omologia per altre proteine conosciute.

Distribuzione antigenica

CD34 è espresso sulle cellule progenitrici ematopoietiche, sull'endotelio vascolare e su alcuni fibroblasti dei tessuti.

Summario

Gli anticorpi CD34 sono importanti negli studi clinici e sperimentali sui progenitori umani ematopoietici, candidate ad essere cellule staminali e sulla popolazione di cellule leucemiche. Gli anticorpi CD34 sono utilizzati clinicamente per le manipolazioni del midollo osseo. Sembra che la glicosilazione del CD34 differisca tra HEV, l'endotelio vascolare o la linea cellulare emopoietica, suggerendo l'esistenza di glicoforme HEV-specifiche di CD34 che potrebbe funzionare come ligando HEV del linfocita nelle L-selettine umane. Questo suggerisce che, in aggiunta al suo ruolo nell'ematopoiesi, il CD34 potrebbe anche giocare un ruolo nella ricircolazione dei linfociti.

Applicazioni

CD34 (clone 581), può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campione di sangue o midollo osseo o in immunocitochimica utilizzando citospots o sezioni di tessuto congelato. Non utilizzabile su sezioni di tessuto incluso in paraffina. Gli anticorpi CD34 possono essere divisi in grandi gruppi che dipendono da quale tipo di epitopo con cui reagiscono. CD34 (clone 581) riconosce lo gli stessi epitopi che riconosce il clone HPCA-2 e mostra la stessa marcatura nelle analisi di citometria a flusso. Il clone 581 reagisce con CD34+ della linea cellulare KG1a, e CD34 cellule transfettate COS, CD34 L cellule murine e biglie coattate con proteine CD34 ma non riconosce la glicoproteina but CD34 in Western blots. Questo anticorpo appartiene al gruppo degli anticorpi del CD34 che riconosce un epitopo che è sensibile alla denaturazione. Comunque, questo epitopo è resistente alla neuraminidasi, alla chimotripaina e alla glicoproteasi come mostrato dalla buona colorazione delle cellule CD34 positive con il monoclonale CD34 dopo trattamento con questi enzimi. Colorazioni istochimiche del clone 581 determinano la superficie dell'endotelio dei capillari e larghi vasi, così come i fibroblasti nella parte superiore del derma o associato alle cellule del muscolo liscio. La reattività viene persa su sezioni in paraffina. Il clone 581 è tra il gruppo degli anticorpi del CD34 che reagisce più fortemente con HEV degli organi linfoidi. La variazione nell'espressione dell'epitopo riflette alcuni gradi dello stadio di maturazione della leucemia e potrebbe essere importante per la sottoclassificazione del CD34+ nelle leucemie acute. Il clone 581 fu trovato che reagiva fortemente con un pannello di cellule di blasti derivati da quattro AML (FAB classificazione da 1 a 4) e da due campioni di ALL (una linea B precoce ed una linea T precoce leucemica).

Utilizzo

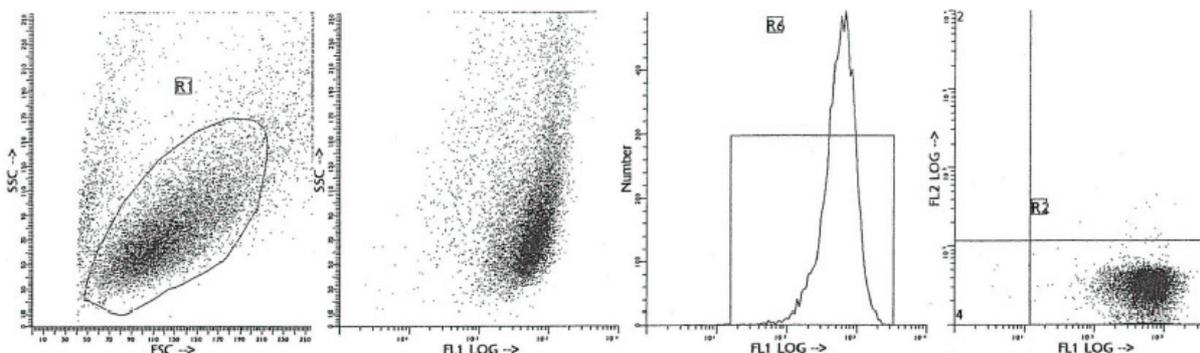
Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazioni di immunofluorescenza diretta di tessuti umani per analisi di citometria a flusso utilizzando 10 µl/10⁶ di leucociti per singola marcatura e 20 µl/10⁶ di leucociti in caso di doppie e triple marcature. Nel caso le applicazioni variassero,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

HLDA Workshop

5th Leukocyte Typing Workshop - Gaudernack, G., Egeland, T. (1995)

Dati rappresentativi

Cellule KG1a sono state colorate con l'anticorpo monoclonale CD34, clone 581 e analizzate al citofluorimetro come mostrato qui di seguito. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con FITC e 100 µl di cellule KG1a.



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	% media positiva	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD34 FITC	99,36	0,21	0,22	IQP-144F
CD34 R-PE	99,60	0,16	0,16	IQP-144R
CD34 APC	100,00	0,00	0,00	IQP-144A

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 richiesti ma non forniti

- 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 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)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 cio' 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 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).

* 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) 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 sodioazide. Questo composto è velenoso e pericoloso. Dovrebbe essere maneggiato solo da personale idoneo.

Referimenti bibliografici

1. Civin, C., et al., 1984, J. Immunol. 133: 157
2. Tindle, R.W., et al., 1984. Leuk. Res. 9: 1
3. Andrews, R.G., et al., 1986. Blood 67: 842
4. Fina, L., et al. 1990. Blood. 75: 2417
5. Schilingemann, R.O., et al., 1990. Lab. Invest. 62: 690
6. Graves, M.F., et al., 1995, In Leukocyte Typing V. S.F. Schlossman et al. eds. p 840. Oxford University Press, Oxford
7. Girard, J.P. and Springer T.A. 1995. Leukocyte Typing V. 1801-1803
8. Gaudernack, G., Egeland, T., 1995. in Leukocyte Typing V
9. Sutherland, D.R., and Keating, A., 1992. J. Hematother. 1: 115

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