

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD138

PURE	RUO	REF	IQP-153P	▽	100 tests	REF	IQP-153P50	▽	50 tests
FITC	IVD	REF	IQP-153F	▽	100 tests	REF	IQP-153F50	▽	50 tests
R-PE	IVD	REF	IQP-153R	▽	100 tests	REF	IQP-153R50	▽	50 tests
CyQ	IVD	REF	IQP-153C	▽	100 tests	REF	IQP-153C50	▽	50 tests
APC	IVD	REF	IQP-153A	▽	100 tests	REF	IQP-153A50	▽	50 tests



CE

Da usare esclusivamente nella ricerca

Da usare nella diagnostica in vitro



Descrizione

Clone

B-A38

Isotipo

murino IgG1

Specificità

CD138 (B-A38) riconosce il proteoglicano da 30.5 kD syndecan-1, espresso sulle plasmacellule umane, sulle cellule endoteliali e sui fibroblasti.

Distribuzione dell'antigene

CD138 (B-A38) determina il 70-100% di cellule di mieloma multiplo e cellule B delle leucemie linfocitiche croniche.

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/10⁶ di leucociti e 20 µl/10⁶ di leucociti nel caso di doppie e triple combinazioni. Se le applicazioni variano, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere il risultato ottimale.

Applicazioni

CD138 (B-A38) può essere applicato in citometria a flusso (FCM), in immunohistochimica (IHC) utilizzando sezioni di tessuto in paraffina, per tecnica di western blots ed ELISA. L'applicazione del B-A38 in immunohistochimica include la reattività con le cellule B nei follicoli linfoidi, le plasmacellule, l'epitelio e l'endotelio nei vari organi. Il B-A38 è utilizzato nella determinazione e monitoraggio del mieloma multiplo, una malattia linfo-proliferativa delle cellule B, nella quale le cellule maligne del plasma producono un gran numero di Ig.

Una rapida e sensibile determinazione dell'isotipo e della clonalità delle cellule del plasma viene fatta dalla colorazione del B-A38 e dalle Ig citoplasmatiche (catene leggere e pesanti).

Affinché nessuna reattività è trovata con i precursori cellulari del CD34 nel midollo osseo, il B-A38 può essere usato per sollecitare il midollo osseo prima di un trapianto autologo.

Il CD138 è anche utilizzato per determinare le plasmacellule, ma è anche espresso sulle cellule pre-B, sui timociti, sulle cellule T attivate, sui basofili, sulle cellule Natural Killer, e sui monociti. Non è uno specifico marcatore delle plasmacellule, il B-A38 aiuta a identificare le plasmacellule nel midollo osseo attraverso la doppia marcatura in citometria a flusso con il CD38.

Tutte le cellule riconosciute dal B-A38 coincidono con la popolazione CD38-bright. La determinazione in citometria a flusso delle plasmacellule è molto sensibile, infatti possono essere determinate lo 0.5% delle plasmacellule nella popolazione delle cellule mononucleate.

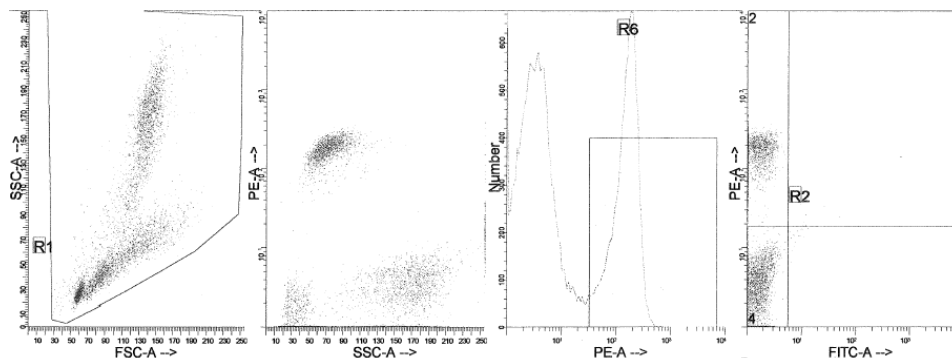
Syndecan-1 è soggetto alla down modulazione a causa del congelamento e scongelamento, della tripsinizzazione o per averlo lasciato troppo a lungo nel campione di sangue. La Re-modulazione su cellule vitali è ristabilita attraverso l'incubazione delle cellule fino a 2 ore a 37 °C in RPMI. La preparazione delle cellule dovrebbe terminare entro le 6 ore dopo la raccolta del campione poichè il CD138 scompare abbastanza rapidamente. Per conservare più a lungo le cellule dovrebbero essere fissate in formaldeide all' 1%.

Workshop HLDA

6th Workshop on Human Leukocyte Antigens (1996)

Dati Rappresentativi

Analisi citofluorimetriche sono illustrate qui di seguito utilizzando il clone B-A38 (CD138) dell'anticorpo monoclonale utilizzando un campione di paziente contenente le plasma cellule (Kahler patient). La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con R-PE in 100 µl di sospensione cellulare.



Riproducibilità

Tre differenti lotti di anticorpi monoclonali prodotti da IQ Products sono stati testati in citometria a flusso utilizzando la metodica 'lyse-no-wash' su un campione di sangue di paziente contenente plasma cellule.

Questi dati supportano la premessa che questi reagenti sono equivalenti nella loro reattività con le plasma cellule.

I valori sono espressi in termini di % della conta totale (vedi tabella).

Reagente	% media positiva	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD138 FITC	29,39	1,01	3,44	IQP-153F
CD138 R-PE	30,39	0,48	1,58	IQP-153R
CD138 CyQ	29,87	0,38	1,27	IQP-153C
CD138 APC	29,88	1,45	4,85	IQP-153A

Limitazioni

- 1 Coniugati con fluorocromi più luminosi quali il PE e l'APC presenteranno una maggiore separazione rispetto a coniugati con altre tinte come il 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 operatori di laboratorio dovranno acquistare familiarità con le caratteristiche di ciascun anticorpo in relazione ai marcatori combinati in campioni normali e anomali.
- 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.
- 5 Si consiglia di utilizzare questi anticorpi monoclonali sulla frazione di sangue dei polimorfonucleati o su campioni di midollo osseo (vedi protocollo qui di seguito ***).

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 punte 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)
- 10 Isopaque Ficoll

Colorazione immunofluorescente e protocollo di lisi

****Isolamento della frazione dei PBMC*

1. Raccogliere 5-10 ml di sangue venoso in provetta eparinizzata o trattata EDTA utilizzando la tecnica di prelievo asettico.
2. Diluire il sangue 1:1 con PBS (Tampone fosfato salino).
3. Aggiungere Ficoll Paque (5 ml) in una provetta da centrifuga.
4. Stratificare attentamente 5 ml del campione di sangue diluito in 5 ml di Ficoll Paque.
5. Centrifugare a 600g per 20 minuti.
6. Trasferire lo strato dei PBMC in una provetta pulita da centrifuga.
7. Aggiungere 5 ml di PBS e centrifugare a 400 g per 15 minuti.
8. Rimuovere il surnatante e aggiungere PBS fino ad una concentrazione di 2.0×10^6 cellule/ml.
9. Continuare con la procedura per la metodica di citofluorimetria per l'utilizzo di anticorpi monoclonali.

- A - Metodo di citometria a flusso per l'uso con anticorpi monoclonali purificati

1. Aggiungere 100 μ l di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10^6 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 μ l di anticorpo monoclonale purificato*. Sottoporre la provetta a vortice 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 vortice e centrifuga (2 min 1000 x g) ed eliminare il surnatante.
5. Aggiungere alla provetta 50 μ l 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 a vortice e incubare al buio per 15 minuti a temperatura ambiente.
7. Aggiungere 100 μ l 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 μ l 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 o APC)

1. Aggiungere 100 μ l di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10^6 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 μ l di anticorpo monoclonale coniugato*. Sottoporre la provetta a vortice per garantire un'accurata miscelazione di anticorpo e cellule.
3. Incubare la provetta al buio per 15 minuti a temperatura ambiente.
4. Aggiungere 100 μ l 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 μ l 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 ciò 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 μ l di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10^6 leucociti) ad una 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 20 μ l di combinazione di anticorpi monoclonali coniugati*.
3. Sottoporre la provetta a vortice per garantire un'accurata miscelazione di anticorpo e cellule.
4. Incubare la provetta al buio per 15 minuti a temperatura ambiente.
5. Aggiungere 100 μ l 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 μ l 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 ciò dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

* *Adeguati campioni di controllo di isotopo Ig di topo 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
Sottoporre a vortice, centrifugare (2 min a 300x g) e rimuovere il surnatante
Ripetere il passaggio due 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) 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 sodio azide, sostanza chimica velenosa e pericolosa. L'uso sarà consentito esclusivamente a operatori specializzati.

Riferimenti bibliografici

1. Zhang et al. 1994. Blood, 83, 3654-3663,
2. Borset et al. 1993. Br. J. Hematol, 85, 446-451
3. Pellat et al. 1994. Blood, 84, 2597-2603
4. Van Camp, B. et al. 1990. Blood, 76, 3777
5. Harada, H. et al. 1993. Blood, 81, 2658
6. Clement, C. et al. 1995. Leukocyte Typing V, Boston, Eds. S.F. Schlossman et al. Oxford Univ. Press, p714-715
7. Wijdenes, J., et al. 1996. Brit. J. Haematol. 94,318-323
8. Van Zaanen, H.C.T. et al. 1995. Brit. J. Haematol., 91, 55-59
9. Vooijs, W.C., et al. 1996. Cancer Immunol. Immunother. 42. 319-328
10. Ocqueteau, M et al. 1996. Br. J. Haematol. 95,489-493

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)

		Label - tandem purified material	Ex -max (nm)	Em -max (nm)
P	PURE		-	-
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



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

