

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD23

PURE	RUO	REF	IQP-154P	▼	100 tests
R-PE	RUO	REF	IQP-154R	▼	100 tests

RUO **Ad esclusivo uso di ricerca**



Descrizione

Clone B-G6

Isotipo Murino IgG1

Specificità Clone B-G6 produce mouse IgG1 immunoglobuline dirette contro l'antigene del t CD23. Esso è utile per l'utilizzo in citometria a flusso ed in immunistoichimica.

Distribuzione dell'antigene

CD23 è un recettore a bassa affinità per IgE (FceR) e sia il FceRIIa sia il FceRIIb sono espressi sulle cellule mature IgD+/IgM+ B. La forma FceRIIb è anche presente sui monociti, sui macrofagi attivati, sugli eosinofili, sulle piastrine e sulle cellule dendritiche follicolari [1]. CD23 è anche presente in una forma solubile nel siero [2]. CD23 insieme al CD19 e al CD22, gioca un ruolo nella modulazione dell'attivazione delle cellule B attraverso le immunoglobuline di membrana ed è coinvolto nella regolazione della sintesi delle IgE. L'espressione del CD23 è incrementata dalla IL-4 e sotto-regolata dal fattore di crescita delle cellule B (BCGF). Legando i complessi immuni delle IgE al CD23 incrementa l'efficienza della trasformazione e della presentazione dell'antigene delle cellule B. Attraverso la sua interazione con il CD21, potrebbe giocare un ruolo nei processi di adesione. Esso media la citotossicità IgE-dipendente e la fagocitosi attraverso i macrofagi e gli eosinofili [3,4].

Riepilogo

CD23 è utilizzato negli studi di differenziazione linfocitaria e per valutare i recettori dell' Fce nel plasma. La maggior parte delle cellule mature IgD+/IgM+ B che esprimono CD23, perdono questo antigene dopo il cambio isotipico verso il cambio dell'isotipo a, g, o e. CD23 non è presente sui linfociti immaturi del midollo osseo o sui T linfociti. La sua espressione è sorprendentemente aumentata durante il processo di attivazione delle cellule B seguendo il legame di membrana (m)Ig e la stimolazione IL-4 o le interazioni T-B. Il CD23 si lega alla superficie delle molecole di adesione CD11b/CD11c espresse sui monociti e si esprime nella sovraregolazione delle citochine proinfiammatorie quali IL-6, IL-1b e TNF-a [5]. L'antigene del CD23 è presente a bassi livelli sulla maggior parte dei linfociti B normali ed è fortemente espresso sulle cellule B attivate, sui linfoblasti trasformati da Epstein-Barr virus (EBV), e sulle cellule di leucemia linfocitica cronica (CLL) di origine B linfocitica. Il CD23 è assente nel linfoma linfoblastico o leucemico, sul linfoma centrocitico, nelle leucemie a cellule capellute e nei linfomi a cellule T.

Applicazioni

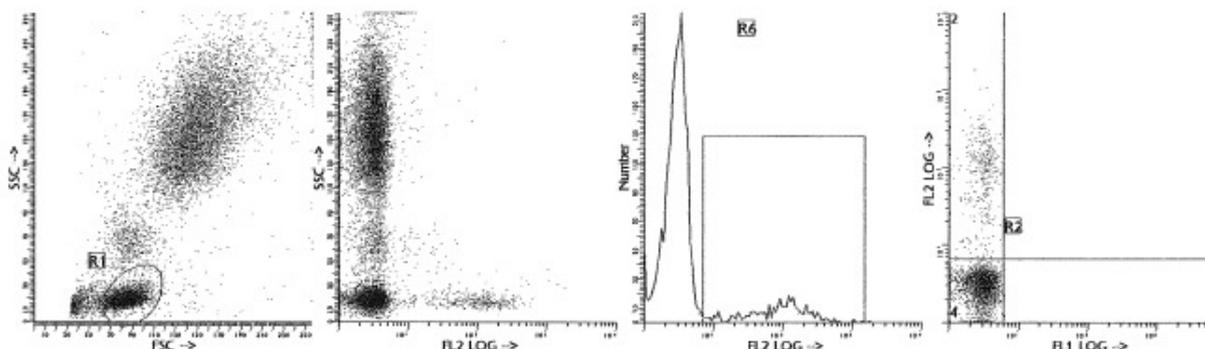
L'anticorpo monoclonale CD23 (clone B-G6) può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e midollo osseo o in immunistoichimica utilizzando cytopspots o sezioni di tessuto congelato.

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 o triple combinazioni. Se le applicazioni variano, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere il risultato ottimale.

Dati Rappresentativi

Analisi di citometria a flusso sono illustrati qui di seguito colorando con gli anticorpi monoclonali CD45, clone ML2, un campione di sangue. Colorazioni dirette sono eseguite utilizzando 10 µl di anticorpo monoclonale purificato coniugato con il RPE e 100 µl di campione di sangue.



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 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 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 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 questo 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
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. Conrad, D.H., 1990 Annu. Rev. Immunol. 8.623-645
2. Richards, M.L. et al. 1991 Critic. Rev. Immunol. 11.65-86
3. Delespesse, G, et al. 1992 Immunol. rev. 125. 77
4. Flores-Romo, L, et al. 1993 Science, 2261,1038
5. Lecoanet-Henchoz, S., et al. 1997 Eur. J. Immunol. 27. 2290-2294

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

IQProducts
bright fluorescence