

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD54

PURE	RUO	REF	IQP-181P	▼	100 tests
FITC	RUO	REF	IQP-181F	▼	100 tests

RUO
Ad esclusivo uso di ricerca


Descrizione

Clone Clone B-H17

Isotipo IgG1

Specificità Clone B-H17 produce immunoglobuline di topo IgG1 dirette contro CD54, una proteina di 90-115 kD.

Distribuzione antigenica

CD54 o molecola di adesione intracellulare 1 (ICAM-1) ha un'ampia distribuzione nei tessuti ma è espresso principalmente sull'endotelio nei tessuti linfoidi e sui linfociti attivati [1]. L'espressione sui Leucociti Resting è bassa ma è sovraregolata sull'attivazione [2]. Una forma solubile del CD54 è determinabile nel sangue [3]. L'antigene del CD54 era inizialmente identificato come ampiamente distribuito, recettore contrapposto citochine inducibile per la funzione linfocitica associata all'antigene -1 (LFA-1; CD11a/CD18).

Sommario

Il CD54 umano è strettamente correlate strutturalmente e funzionalmente al CD50 (ICAM-3) e al CD102 (ICAM-2) [4]. Il CD54 endoteliale contribuisce all'extrariversamento dei Leucociti dai vasi sanguigni, particolarmente nelle aree dell'infiammazione [5]. CD54 sulle cellule presentanti l'antigene contribuisce all'attivazione delle cellule T antigene specifico, presumibilmente potenziando le interazioni tra le cellule T e le cellule che presentano l'antigene. Gli anticorpi monoclonali clone B-H17 si è visto che non inibiscono il legame di LFA-1 e non mostrano reattività con ICAM-2 e ICAM-3.

Applicazioni

L'anticorpo monoclonale CD54, clone B-H17 può essere applicato in studi biologici, in citometria a flusso o in immunocitochimica utilizzando citospot o sezioni di tessuto congelato.

Utilizzo

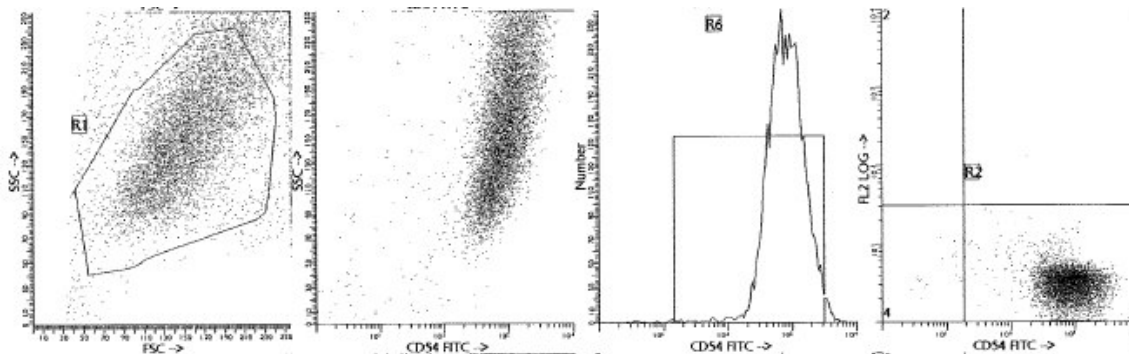
Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazioni di immunofluorescenza diretta di tessuti umani per analisi di citometria a flusso utilizzando 10 µl/10⁶ di leucociti per singola marcatura e 20 µl/10⁶ leucociti in caso di doppie e triple combinazioni. Se le applicazioni variassero,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

HLDA Workshop

B-H17 è stato dato il cluster al Leucocyte Workshop VI [4].

Dati rappresentativi

La colorazione con il clone B-H17 (CD54) di attivate HUVEC (human umbilical vascular endothelial cells) è illustrata con analisi di citometria a flusso. Colorazioni dirette sono eseguite utilizzando 10 µl di anticorpo marcato con FITC e 100 µl di cellule di adesione.



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 10⁶ 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 temperatura 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)2 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 temperatura 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 temperatura 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 10⁶ 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 temperatura ambiente e al buio.
4. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronta all'uso) e miscelare immediatamente.
5. Incubare per 10 minuti a temperatura 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 106 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 temperature ambiente e al buio.
5. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199pronta all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare per 10 minuti a temperature 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 (NaN₃). 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.

Referenze

1. Smith, M.E.F. and Thomas, J.A., 1990, J. Clin. Pathol. 43. 893-900
2. Springer, T.A., 1990, Nature 346. 425-434
3. Barclay, a.N. et al. 1997, Leucocyte Antigen Facts book. Academic Press. London
4. Kishimoto et al., eds. Leucocyte Typing workshopVI. 1998. Garland Pub. Inc.
5. Miller, J., et al., 1995, J. Exp. Med. 182. 1231-1241
6. Xu, H. et al. 1994, J. Exp. Med. 180, 95-109

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

IQ Products
Bright fluorescence