

## PRODUCT INFORMATION SHEET

### Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

#### CD50

PURE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-183P	▽	100 tests
FITC	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">IVD</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-183F	▽	100 tests

RUO **Solo per Uso Ricerca**



#### Descrizione

**Clone** B-R1

**Isotipo** Murino IgG1

**Specificità** Clone B-R1 produce immunoglobuline di topo IgG1 dirette contro una proteina da 125 kD conosciuta come CD50 umana. Ad esso è stato dato il cluster al Leukocyte Typing workshop VI [6]. Esso reagisce con 70-100% dei linfociti del sangue periferico e con le cellule T attivate. Esso reagisce anche con un numero di linee cellulari T e B umane e con linee cellulari mieloidi umane. Il Clone B-R1 riconosce anche l'antigene solubile.

#### Distribuzione antigenica

CD50 o molecola d'adesione intracellulare (ICAM-3) è costitutivamente espresso ad alti livelli sui Leucociti, incluse le cellule dendritiche di Langerhans incluse nell'epidermide [1]. Esso generalmente non si trova nell'endotelio. CD50 è rilasciato dai linfociti attivati e dai neutrofili, probabilmente dallo spazio proteolitico e dalle forme solubili del CD50 che sono determinabili nel sangue.

#### Sommario

CD50 gioca un importante ruolo nel provvedere al segnale di costimolazione nella risposta immune e media l'adesione tra i leucociti. E' costitutivamente espresso sulle cellule che presentano gli antigeni resting, incluse le cellule dendritiche, e sembra essere importante nelle interazioni iniziali tra le cellule T e le cellule che conducono all'attivazione delle cellule T. [1]. Il legame crociato del CD50 sulle cellule T con gli anticorpi monoclonali può mobilitare il calcio intracellulare [2], attivare la fosforilazione della tirosina, e stimola l'adesione delle cellule T e la proliferazione. [3,4]. CD50, come CD54 e CD102 è un ligando per l'integrina leucocitaria LFA-1 (CD11a/CD18) [5]. E' una proteina di membrane altamente glicosilata di tipo I.

#### Applicazioni

CD50, clone B-R1, può essere applicato in studi di biologia, in citometria a flusso o in immunisto chimica utilizzando cytosspots o sezioni di tessuto congelato.

#### Utilizzo

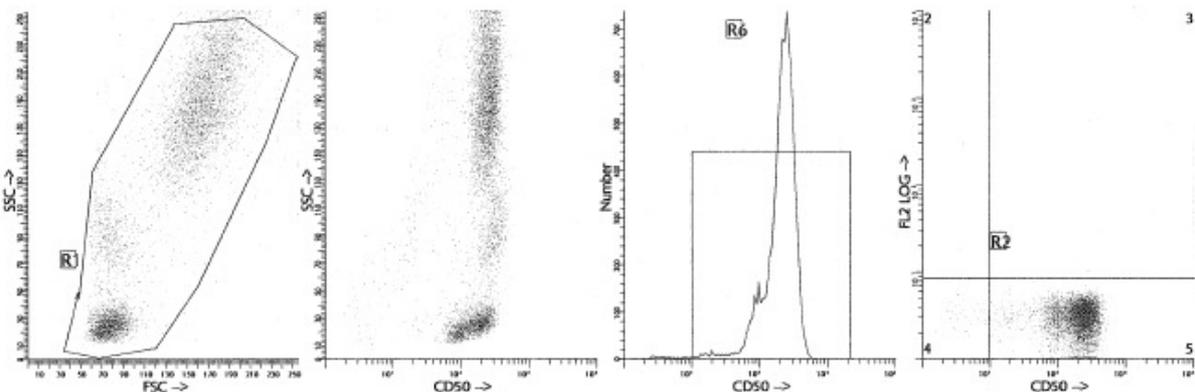
Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazioni di immunofluorescenza diretta di tessuti umani per analisi di citometria a flusso utilizzando 10 µl/106 leucociti per colorazioni single e 20 µl/106 leucociti in caso di doppie e triple marcature. Se le applicazioni variassero, ogni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

#### HLDA Workshop

Al Clone B-R1 è stato dato il cluster al Leukocyte Typing workshop VI [6].

#### Dati rappresentativi

L'anticorpo monoclonale CD50, clone B-R1, è stato analizzato in citometria a flusso utilizzando sangue da donatore volontario sano. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con FITC 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, CyQ e PerCP. 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 dall'uso di altri anticoagulanti.

## Reagenti e materiali richiesti ma non forniti

1. Citofluorimetro
2. Provette per citofluorimetro 12 x 75-mm tappate in polistirene
3. Micropipette con puntali monouso
4. Agitatore Vortex
5. Centrifuga
6. IQ Lyse - erythrocyte soluzione lisante (IQP-199)
7. IQ Starfix - soluzione fissativa e permeabilizzante (IQP-200)
8. PBS (tampone fosfato salino)
9. Soluzione di PBS all'1% in paraformaldeide (conservare a 2-8 °C in vetro scuro per una settimana)

## Colorazione di Immunofluorescenza e protocollo di lisi

### - A - Metodica citofluorimetrica per l'utilizzo di anticorpi monoclonali purificati

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (es. circa. 10<sup>6</sup> leucociti) in una provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per attuare un test.
2. Aggiungere ad ogni provetta 10 µl di anticorpo monoclonale purificato\*. Agitare la provetta con il Vortex per assicurare la miscelazione tra anticorpo e 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)<sub>2</sub> Rabbit Anti Mouse IgG coniugato con fluorescenza, [FITC (IQP-190F; R-PE (IQP-190R))] diluito 1:10 in PBS contenente 0.001% (v/v) Eparina nella provetta. Si raccomanda di proteggere la provetta dalla luce.
6. Miscelare con vortex e incubare per 15 minuti a temperatura ambiente al buio.
7. Aggiungere 100 µl di soluzione lisante IQ Lyse (IQP-199 pronta all'uso) e miscelare immediatamente.
8. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente al buio.
9. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
10. Centrifugare la sospensione di cellule marcate 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 alternativa, le cellule dovrebbero essere fissate con 0.05% di formaldeide in tampone salino per analizzarle il giorno successivo. Alcuni antigeni sono subito distrutti con la fissazione e questo fatto dovrebbe essere tenuto in considerazione quando viene utilizzata questa alternativa).

### - B - Metodica citofluorimetrica per l'utilizzo di anticorpi monoclonali coniugati con (FITC, R-PE, CyQ or APC

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (es. circa 10<sup>6</sup> leucociti) ad una provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un'analisi.
2. Aggiungere ad ogni tubo 10 µl di anticorpo monoclonale coniugato\*. Agitare la provetta con il Vortex per assicurare una buona miscelazione del monoclonale con le cellule.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente al buio.
4. Aggiungere 100 µl di lisante IQ Lyse (IQP-199 pronto 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 minutes al buio.
7. Centrifugare la sospensione di cellule marcate 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 (alternativamente, le cellule dovrebbero essere fissate con 0.05% di formaldeide in tampone salino per analizzarle il giorno dopo. Alcuni antigeni sono subito distrutti con la fissazione e questo fatto dovrebbe essere tenuto in considerazione quando viene utilizzata questa alternativa).

- C - Metodica citofluorimetrica per l'utilizzo di doppie e triple combinazioni

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (es. circa. 10<sup>6</sup> leucociti) ad una provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.  
**Per combinazioni con anti-kappa e/o anti-lambda Ig 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 una perfetta miscelazione tra anticorpi e cellule.
4. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente al buio.
5. Aggiungere 100 µl di soluzione lisante IQ Lyse (IQP-199 pronta all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente al buio.
7. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minutes al buio.
8. Centrifugare la sospensione cellulare 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 successivo. Alcuni antigeni sono subito distrutti con la fissazione e questo fatto dovrebbe essere tenuto in considerazione quando viene utilizzata questa alternativa).

\* Campioni di un appropriato controllo mouse Ig isotipo dovrebbero essere sempre inclusi in ogni studio di marcatura

\*\* PBS: Tampone Fosfato Salino, pH 7.2

**Nota applicativa per combinazioni di Ig anti-kappa e/o anti-lambda Ig**

Aggiungere 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina (preriscaldata a 37 °C) alla sospensione cellulare. Miscelare con vortex, centrifugare (2 min a 300x g) e scartare il surnatante. Ripetere questo 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 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 (NaN<sub>3</sub>). 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. Starling, G.C., et al. 1995, Eur. J. Immunol. 25. 2528 - 2532
2. Juan et al. 1994, J. Exp. Med. 179.1747-1756
3. Hernandez-Caselles, T., et al., 1993. Eur. J. Immunol. 23, 2799-2806
4. Barclay, A.N., et al, 1997. Leucocyte Antigen Facts book. Academic Press. London
5. de Fougerolles, A.R., et al. 1993. J. Exp. Med. 177. 1187 - 1192
6. Kishimoto et al., eds. Leucocyte Typing workshop VI 1998. Garland Pub. Inc.

## 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)

**IQ Products**  
bright fluorescence