

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD19

PURE	RUO	REF	IQP-515P	▼ 100 tests
FITC	IVD	REF	IQP-515F	▼ 100 tests
R-PE	IVD	REF	IQP-515R	▼ 100 tests
CyQ	IVD	REF	IQP-515C	▼ 100 tests
APC	IVD	REF	IQP-515A	▼ 100 tests
PerCP	RUO	REF	IQP-515PC	▼ 100 tests



Dispositivo medico-diagnostico in vitro
Da usare esclusivamente nella ricerca



Descrizione

Clone

HD37

Isotipo

murino IgG1

Specificità

CD19 riconosce una glicoproteina di membrana di 95 kD.

Distribuzione dell'antigene

CD19 (HD37) è presente su tutte le cellule B del sangue periferico. CD19 è anche espresso sui precursori delle cellule B durante la maturazione, ma non sulle plasmacellule mature.

Riepilogo

La funzione della molecola del CD19 è correlata al segnale di transfer ed è coinvolta nella regolazione della proliferazione delle cellule B. CD19 viene considerato come un caratteristico marcatore delle cellule B e viene usato comunemente per la routine dell'immunofenotipo. CD19 potrebbe anche essere espresso sulle cellule dendritiche follicolari.

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

CD19 (HD37) può essere utilizzato in citometria a flusso e in immunocitochimica utilizzando sezioni di tessuto congelato.

Progenitori delle cellule B mature nel midollo osseo che successivamente appaiono come cellule B mature CD19+ nel sangue. Dopo contatto con antigeni estranei e appropriate cellule T Helper, esse potrebbero differenziare per produrre specifici anticorpi che producono plasma cellule.

La determinazione delle cellule che esprimono CD19 è importante nella diagnosi di precursori leucemici delle cellule B (pre-B ALL), delle cellule B mature (B ALL), e delle plasma cellule. La distinzione tra i sottotipi di queste Leucemie Acute può essere fatta utilizzando gli anticorpi CD19 insieme ad anticorpi monoclonali per Ig citoplasmatiche o di membrana.

Un largo numero di disordini delle cellule B può essere effettivamente caratterizzato dall'espressione del CD19 con uno o più antigeni addizionali. Un esempio è la Leucemia a Cellule Capellute (HCL), che mostra una specifica espressione di CD11c, CD19, CD20 e CD103. La combinazione di CD103/CD19 è un importante mezzo per la diagnosi di HCL.

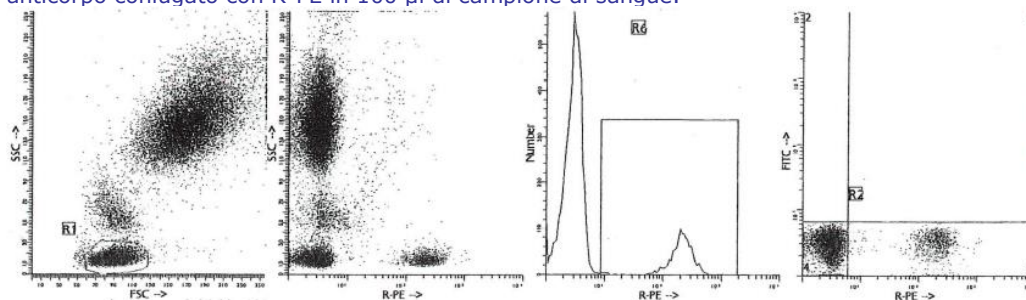
Altre combinazioni valutabili di anticorpi per distinguere tra differenti leucemie utilizzando il CD19, sono gli anticorpi CD5/CD19 (es. Chronic Lymphatic Leukemia); CD10/CD19 (common ALL e pre-B ALL) e CD19/cyCD79a (Acute B cell leukemia).

Workshop HLDA

4th Leukocyte Typing Workshop - Knapp, W., et al., Oxford University Press, New York (1990)

Dati Rappresentativi

Normali cellule del sangue sono colorate con l'anticorpo monoclonale CD19 (clone HD37) come nei citogrammi di analisi seguenti. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con R-PE in 100 µl di campione di sangue.



Riproducibilità

Gli Anticorpi Monoclonali IQ Products vengono testati in citometria a flusso utilizzando la metodica 'lyse-wash' su 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	n	% media positiva	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD19 FITC	9	10.80	2.14	19.79	IQP-515F
CD19 R-PE	9	10.57	2.06	19.49	IQP-515R
CD19 CyQ	9	10.62	2.27	21.39	IQP-515C
CD19 APC	9	9.16	1.95	21.31	IQP-515A

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.

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)

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 ca. 10⁶ 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 µl 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 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 a vortice 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 o APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10⁶ 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 µl 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 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 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 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero ca. 10⁶ 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 µl 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 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 ciò dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

* Adeguate 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) 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. Poppema, S. and Visser, L., In: Monoclonal antibodies in the Characterization of Lymphomas and the Diagnosis of Disease; Proc. of the 9th Biotest Symposium, Institute of Education, London, 1987. Sonneborn H.H. and Tills D. Eds
2. Moldenhauer, G., et al., In Leucocyte Typing II Human B Lymphocytes, 1986, 61-67, E.L. Reinherz, B.F. Haynes, L.M. Nadler, and I.D. Bernstein eds. (Springer-Verlag, New York)
3. Meeker, T.C., et al., 1984. Hybridoma. 3: 305.
4. Loken, M.R., et al. 1987. Blood 70: 1316
5. Rothe, G., and Schmitz, G., Leukemia, 1996, 10: 877-895.
6. Leucocyte Typing IV 1990, Knapp, W. et al, eds. Oxford University Press.
- 7.

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	Material 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



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