

## PRODUCT INFORMATION SHEET

### Monoclonal antibodies detecting human antigens

#### CD3

PURE	<input type="checkbox"/> ORALL	<input type="checkbox"/> REF	IQP-519P BR	▽	100 tests
FITC	<input type="checkbox"/> ORALL	<input type="checkbox"/> REF	IQP-519F BR	▽	100 tests
R-PE	<input type="checkbox"/> ORALL	<input type="checkbox"/> REF	IQP-519R BR	▽	100 tests
CyQ	<input type="checkbox"/> ORALL	<input type="checkbox"/> REF	IQP-519C BR	▽	100 tests
APC	<input type="checkbox"/> ORALL	<input type="checkbox"/> REF	IQP-519A BR	▽	100 tests
PerCP	<input type="checkbox"/> ORALL	<input type="checkbox"/> REF	IQP-519PC BR	▽	100 tests
PerCP-Cy5.5	<input type="checkbox"/> ORALL	<input type="checkbox"/> REF	IQP-519PCC BR	▽	100 tests

 ORALL

**Exclusivamente para uso em investigação**


#### Descrição

#### Clone

UCHT1

#### Isotipo

Murino IgG1

#### Especificidade

CD3 reconhece a 20-28 kDa ε em cadeia da molécula CD3 complexo

#### Distribuição de antígenos

O antígeno CD3 está presente em 70-80% dos linfócitos do sangue periférico humano normal e 1020% de os timócitos. CD3 é expressa em maior que 95% de células T circulantes periférico humano.-

#### Resumo

CD3 tem um efeito mitogênico (linfócitos T em repouso). Ele bloqueia a atividade citolítica da CTL clones. CD3 reage com a estrutura constante do CD3/receptor de células T complexo (TcR). Ele não reagir com as células T falta o TcR. A TcR está presente em células T maduras e durante thymopoiesis. Este complexo é composto de pelo menos cinco proteínas CD3, CD3γ, CD3δ, CD3ε, Cadeia de ζ e o η em cadeia em associação com TcRα/β ou TcRγ/δ proteínas. TcR reconhece antígenos em associação com moléculas MHC após o qual cadeias protéicas do complexo CD3 mediar os sinais de ativação desencadeada pela TcR antígeno vinculativa.

#### Aplicativos

Citometria de fluxo; ativação; Bloquear; ELISA; IHC em cortes congelados; Imunoprecipitação. Este anticorpo pode ser utilizado para detectar a Intra Cytoplasmic Sperm Injection CD3 (cyCD3) em citometria de fluxo após a permeabilização.

#### Utilização

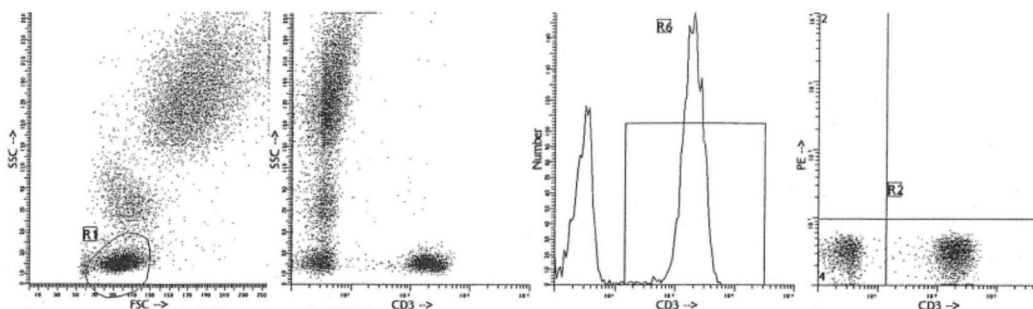
Todos estes reagentes são efetivamente formulados para coloração de imunofluorescência direta do tecido humano para análise de citometria de fluxo usando 10 µl/106 leucócitos para solteiros e 20 µl/106 leucócitos no caso de combinações de duplas e triplas. Visto que os aplicativos variam, cada investigador deve dosear o reagente para obter resultados ideais.

#### Workshop HLDA

6 leucócitos digitando Workshop - Bernard;, et al . A EDS., Springer-Verlag (1981)

#### Dados representativos

A coloração com clone UCHT1 (CD3) anticorpos monoclonais é ilustrada pela análise de citometria de fluxo de células de sangue normal. Foi realizada a coloração direta usando 10 µl do anticorpo conjugado com FITC e 100 µl de amostra de sangue.



## Reprodutibilidade

Anticorpos monoclonais de produtos IQ foram testadas por citometria de fluxo usando um "lisar-lavagem" método em toda a sangue de doadores saudáveis. Os dados obtidos suportam a premissa de que estes reagentes são equivalentes na sua reatividade com linfócitos do sangue periférico. Os valores são expressos em termos de % da contagem total de linfócitos (consulte a tabela).

Reagente	N	Média de % positivo	S.D.	% CV	Código produto	do
CD3 FITC	10	66.50	3.77	5.66	IQP-519F	
CD3 R-PE	10	69.18	4.11	5,94	IQP-519R	
CD3 Trimestre	10	71.15	2.81	3.95	IQP-519C	
CD3 APC	10	72.19	4.45	6.16	IQP-519A	

## Limitações

1. Conjugados com fluorocromos mais brilhante, como PE e a APC, terá uma maior separação do que aqueles com corantes como FITC e trimestre. Quando as populações se sobrepõem, a percentagem de células positivas usando um marcador selecionado pode ser afetada pela escolha da etiqueta fluorescente.
2. Uso de anticorpos monoclonais no tratamento do paciente pode interferir com o reconhecimento pelo antígeno target este reagente. Este facto deve ser tido em conta quando são analisadas amostras de pacientes tratados desta forma. Produtos IQ não tem caracterizado o efeito da presença de anticorpos terapêuticos sobre o desempenho deste reagente.
3. Os reagentes podem ser utilizados em combinações diferentes laboratórios, portanto necessidade de conhecer as características de desempenho de cada anticorpo em relação com a combinação de marcadores nas amostras normais e anormais.
4. Reagente de desempenho de dados é baseado em EDTA-sangue tratado. Desempenho de reagente pode ser afetado pelo uso de outros anticoagulantes.

## Reagentes e materiais necessários mas não fornecidos

1. Em citômetro de fluxo
2. Citometria de fluxo descartável 12 x 75 mm tampadas poliestireno tubos de ensaio
3. Micropipeta com pontas descartáveis
4. Agitador de vórtice
5. Centrífuga
6. IQ lisar - solução de lise de hemácias (IQP-199)
7. IQ Starfiqs - Fixação e permeabilização solução (IQP-200)
8. PBS (solução salina tamponada com fosfatos)
9. Solução de paraformaldeído a 1% em PBS (armazenar a 2-8 °C em vidro âmbar para até 1 semana)

## Técnica de coloração de imunofluorescência indireta e lisar protocolo

### - A - Método de citometria de fluxo para uso com anticorpos monoclonais purificado

1. Adicionar 100 µl de EDTA-sangue tratado (ou seja aproximadamente 106 leucócitos) para um tubo de 5 ml de reagente. O conteúdo de um tubo é suficiente para a execução de um teste.
2. Adicionar a cada tubo 10 µl de anticorpo monoclonal purificado\*. Vortex o tubo para assegurar uma mistura completa dos anticorpos e células.
3. Incubar o tubo durante quinze minutos em temperatura ambiente no escuro.
4. Lavar as células marcadas pela adição de 2 ml de PBS contendo 0,001% (v/v) Heparina, centrifugação e centrifugação (2 min 1000 x g.) e descarte o sobrenadante.
5. Adicionar 50 µl de 1:10 de diluição de produtos IQ F(ab)2 Coelho Anti IgG de camundongo conjugado fluorescente, [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] em PBS contendo 0,001% (v/v) de heparina para o tubo. É recomendado que o tubo esteja protegido da luz.
6. Misturar por centrifugação e incubar durante 15 minutos à temperatura ambiente no escuro.
7. Adicionar 100 µl do IQ lisar (IQP-199 prontos para uso) e misturar imediatamente.
8. Incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente no escuro.
9. Adicionar 2 ml de água desmineralizada e incubar durante dez minutos no escuro.
10. Centrifugar a suspensão de células rotuladas durante 2 minutos a 1000 x g.
11. Extrair a fracção sobrenadante e colocar novamente as células em 200 µl de PBS.\*\*
12. Análise por citometria de fluxo no prazo de quatro horas (alternativamente, as células podem ser fixadas por 0,05% de formalina em salina tamponada para análise no dia seguinte. Alguns antígenos são prontamente destruídas mediante a fixação e isso deve ser levado em conta quando usando essa alternativa).

- B - Método de citometria de fluxo para uso com rotulada (FITC, R-PE, trimestre, APC, PerCP ou PerCP-Cy5.5) anticorpos monoclonais

1. Adicionar 100 µl de EDTA-sangue tratado (ou seja aproximadamente 106 leucócitos) para um tubo de 5 ml de reagente. O conteúdo de um tubo é suficiente para a execução de um teste.
2. Adicionar a cada tubo 10 µl de anticorpo monoclonal rotulada\*. Vortex o tubo para assegurar uma mistura completa dos anticorpos e células.
3. Incubar o tubo durante quinze minutos em temperatura ambiente no escuro.
4. Adicionar 100 µl do IQ lisar (IQP-199 prontos para uso) e misturar imediatamente.
5. Incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente no escuro.
6. Adicionar 2 ml de água desmineralizada e incubar durante dez minutos no escuro.
7. Centrifugar a suspensão de células rotuladas durante 2 minutos a 1000 x g.
8. Extrair a fracção sobrenadante e colocar novamente as células em 200 µl de PBS.\*\*
9. Análise por citometria de fluxo no prazo de quatro horas (alternativamente, as células podem ser fixadas por 0,05% de formalina em salina tamponada para análise no dia seguinte. Alguns antigénios são prontamente destruídas mediante a fixação e isso deve ser levado em conta quando usando essa alternativa).

- C - Método de citometria de fluxo para uso com combinações duplas e triplas

1. Adicionar 100 µl de EDTA-sangue tratado (ou seja aproximadamente 106 leucócitos) para um tubo de 5 ml de reagente. O conteúdo de um tubo é suficiente para a execução de um teste.  
**Para combinações com anti-kappa e/ou anti-lambda Ig ver nota de aplicação abaixo.**
2. Adicionar a cada tubo 20 µl de anticorpo monoclonal rotulada combinação. \*
3. Vortex o tubo para assegurar uma mistura completa dos anticorpos e células.
4. Incubar o tubo durante quinze minutos em temperatura ambiente no escuro.
5. Adicionar 100 µl do IQ lisar (IQP-199 prontos para uso) e misturar imediatamente.
6. Incubar durante 10 minutos à temperatura ambiente no escuro.
7. Adicionar 2 ml de água desmineralizada e incubar durante dez minutos no escuro.
8. Centrifugar a suspensão de células rotuladas durante 2 minutos a 1000 x g.
9. Extrair a fracção sobrenadante e colocar novamente as células em 200 µl de PBS.\*\*
10. Análise por citometria de fluxo no prazo de quatro horas (alternativamente, as células podem ser fixadas por 0,05% de formalina em salina tamponada para análise no dia seguinte. Alguns antigénios são prontamente destruídas mediante a fixação e isso deve ser levado em conta quando usando essa alternativa).

\* adequado mouse isótipo de Ig amostras de controlo deve ser sempre incluída em qualquer estudo de rotulação

\*\* PBS: Solução salina tamponada com fosfato, pH 7,2

**Nota de aplicação para anti-kappa e/ou anti-lambda combinações de Ig**

Adicionar 2 ml de PBS contendo 0,001% (v/v) Heparina (**lavam-a 37 °C**) para a suspensão de células  
Vortex, centrifugar (2 min a 300 x g) e descarte o líquido sobrenadante  
Repita esta etapa duas vezes  
Ressuspender o peletizada células do sangue em 100 µl tampão PBS contendo 0,001% (v/v) Heparina



**Manuseamento e armazenagem**

Os anticorpos são fornecidos como 100 testes por frasco (1 ml) ou 50 testes por frasco (1 ml) para combinações duplas e triplas. Eles são fornecidos em fosfato de sódio 0,01 M, 0,15 M NaCl; pH 7,3, 0,2%, 0,09% sodiazide BSA (NaN<sub>3</sub>). Armazenar os tubos a 2-8 °C. Os anticorpos monoclonais devem ser protegidos da exposição prolongada à luz. Os reagentes são estáveis durante o período indicado no rótulo do frasco quando armazenado corretamente.

**Garantia** Produtos vendidos aqui são justificáveis apenas em conformidade com a quantidade e o conteúdo indicado na etiqueta no momento de entrega ao cliente. Não existem quaisquer garantias expressas ou implícitas que ultrapassem a descrição no rótulo do produto. Produtos IQ não é responsável por danos de propriedade, ferimentos pessoais ou prejuízos económicos causados pelo produto.

**Caracterização**












Para garantir consistentemente os reagentes de alta qualidade, cada lote de anticorpo monoclonal é testado para conformidade com características de um reagente padrão. Representante citometria de fluxo de dados está incluído nesta folha de dados.

**Aviso** Todos os produtos contêm sodiazide. Este produto químico é venenoso e perigosos. Tratamento deve ser feito por pessoal treinado apenas.

## Referências

1. Caracterização de um antígeno que é reconhecido em um melanoma mostrando a perda de HLA parcial CTL exprimir uma receptor inibitória NK. Ikeda, H., Lethé, B., Lehmann, F., Van Baren, N., Baurain, J.F., De Smet, C., Chambost, H., Vitale, M., Moretta, A., Boon, T., Coulie, P.G. 1997.
2. Efeito funcional de CD2 e anticorpos CD3. Görög, G., Batory, G., Lanzavecchia, A., 1987.
3. A análise dos sinais de ativação induzida por anticorpos CD3 e seu papel na proliferação de células T. Wallace, DL., Mancintire, EA., Linch, DC., Beverley, PCL. 1987.
4. Ativação do homem os tímócitos através de CD3 e CD2 moléculas. Denning, S.M., acomode, D.T., cantor K.H., Haynes, B.F. 1987.
5. Análise por citometria de fluxo de tirosina de proteínas fosforiladas em subconjuntos de células T ativadas em amostras de sangue total. Hubert, P., Grenot, P., Autran, B., Debré, P. 1997.
6. Células T de pacientes com doença de Hodgkin têm um defeito no receptor de células T cadeia zeta expressão que é reversível pela estimulação de células T com CD3 e CD28. Renner, C., Ohnesorge, S., realizada, G., Bauer, S., Jung, W., Pfitzenmeier, Pfreundschuh, M. 1996.
7. Expressão do receptor de IL-2 subunidade gama em repouso dos linfócitos T CD4 : mRNA é constitutivamente transcritas e a proteína armazenada como um componente intracelular. Bani, L., David, D., Moreau, J.L., Cayota, A., Nakarai, T., Ritz, J., Thèze, J. 1997.
8. Efeitos positivos da terapia anti-retroviral combinada em células T CD4+ homeostase e função na doença avançada de HIV. Autran, B., Carcelain, G., Li, T.S., Blanc, C., Mathez, D., Tubiana, R., Katlama, C., Debré, P., Leibowitch, J. 1997.
9. CD denominações e anticorpos comercialmente disponíveis. Leong, A.S.Y. 1993
10. Evidências para a ativação da proteína quinase C. em linfócitos T pela estimulação de CD2 ou CD3 antígenos. Friedrich, B., Cantrell, D.A., Gullberg, M. 1989.

## Explicação dos símbolos utilizados

	Consulte as instruções de uso
	Número de catálogo
	Suficiente para
	Cuidado, consulte documento de acompanhamento
	Manter afastado de luz solar
	Riscos biológicos
	Limitação de Temperatura (°C)
	Exclusivamente para uso em investigação
	Código de lote
	Utilização por aaaa-mm-dd
	Fabricante

		<b>Etiqueta tandem</b>	<b>Ex -max (nm)</b>	<b>Em -max (nm)</b>
P	Puro	Material purificado	-	-
F	FITC	FITC	488	519
R	R-PE	PE	488, 532	578
C	Trimestre de	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, Países Baixos

 +31 (0)50 57 000  
 +31 (0)50 57 002  
 Técnica [marketing@iqproducts.nl](mailto:marketing@iqproducts.nl)  
 Encomendas [orders@iqproducts.nl](mailto:orders@iqproducts.nl)  
 [www.iqproducts.nl](http://www.iqproducts.nl)