

## PRODUCT INFORMATION SHEET

### Monoclonal antibodies detecting human antigens

#### CD3

PURE	RUO	REF	IQP-519P	▽	100 tests
FITC	IVD	REF	IQP-519F	▽	100 tests
R-PE	IVD	REF	IQP-519R	▽	100 tests
CyQ	IVD	REF	IQP-519C	▽	100 tests
APC	IVD	REF	IQP-519A	▽	100 tests
Dy-410	RUO	REF	IQP-519D	▽	100 tests
PerCP	RUO	REF	IQP-519PC	▽	100 tests


**CE** Per Uso Diagnostico in Vitro  
 Solo per Uso Ricerca



#### Descrizione

**Clone** UCHT1

**Isotipo** murino IgG1

**Specificità** CD3 riconosce la catena  $\epsilon$  20-28 kDa del complesso molecolare del CD3

#### Distribuzione antigenica

L'antigene del CD3 è presente sul 70-80% dei linfociti del sangue periferico umano normale e sul 10-20% dei timociti. CD3 è espresso per la maggior parte sul 95% delle cellule T circolanti del sangue periferico umano.

**Sommario** CD3 ha effetti mitogeni (mettendo a riposo) sui T linfociti. Esso blocca l'attività citologica dei cloni CTL. CD3 reagisce con la struttura costante del CD3/T del complesso del recettore cellulare (TcR). Esso non reagisce con quelle cellule T che hanno perso il TcR. Il TcR è presente sulle cellule T mature e durante la timopoiesi. Questo complesso è fatto almeno da cinque proteine del CD3: CD3 $\gamma$ , CD3 $\delta$ , CD3 $\epsilon$ , la catena  $\zeta$ , e la catena  $\eta$  in associazione con l'una o l'altra proteina TcR $\alpha/\beta$  o TcR $\gamma/\delta$ . TcR riconosce gli antigeni in associazione con le molecole MHC dopo che le catene proteiche del complesso del CD3 mediano i segnali di attivazione innescati dal legame antigenico TcR.

**Applicazioni** Citometria a flusso; Attivazione; Bloccaggio; ELISA; Immunoistochimica su sezioni congelate; Immunoprecipitazione. Questo anticorpo può essere utilizzato per determinare il CD3 (cyCD3) intracitoplasmatico in citometria a flusso dopo permeabilizzazione.

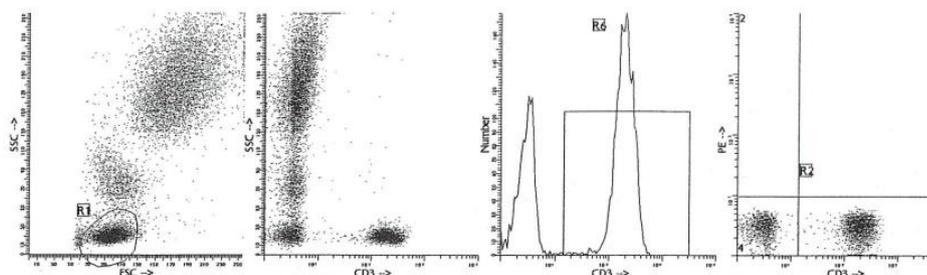
**Utilizzo** Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazioni di immunofluorescenza diretta di tessuti umani per analisi di citometria a flusso utilizzando 10  $\mu$ l/10<sup>6</sup> leucociti per le singole e 20  $\mu$ l/10<sup>6</sup> leucociti nel caso di doppie e triple combinazioni. Nel caso le applicazioni variassero, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere risultati ottimali.

#### HLDA Workshop

6<sup>th</sup> Leukocyte Typing Workshop - Bernard, A., et al. Eds., Springer-Verlag (1981)

#### Dati rappresentativi

Le analisi di citometria a flusso di normali cellule del sangue sono illustrate colorando con anticorpi monoclonali clone UCHT1 (CD3). La colorazione diretta è stata eseguita utilizzando 10  $\mu$ l dell'anticorpo coniugato con FITC e 100  $\mu$ l di campione di sangue.



## Riproducibilità

Gli anticorpi monoclonali di IQ Products sono stati testati in citometria a flusso utilizzando la metodica 'lyse-wash' su sangue intero da donatori sani. I dati ottenuti supportano la premessa che questi reagenti sono equivalenti nella loro reattività con i linfociti del sangue periferico. I valori sono espressi in termini di % della conta dei linfociti totali (vedi tabella).

Reagente	n	Mean positiva	% S.D.	% CV	Codice Prodotto
CD3 FITC	10	66.50	3.77	5.66	IQP-519F
CD3 R-PE	10	69.18	4.11	5.94	IQP-519R
CD3 CyQ	10	71.15	2.81	3.95	IQP-519C
CD3 APC	10	72.19	4.45	6.16	IQP-519A

## Limitazioni

1. I coniugati con fluorocromi più brillanti quali PE e APC, otterranno una separazione maggiore di quelli con coloranti quali FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, la percentuale delle cellule positive, utilizzando un marcatore selezionato potrebbe essere influenzata dalla scelta della marcatura fluorescente.
2. L'utilizzo di anticorpi monoclonali nel trattamento dei pazienti può interferire con il riconoscimento dell'antigene bersaglio per questo reagente. Questo deve essere tenuto in considerazione sono analizzati i campioni dei pazienti sotto questo trattamento. IQ Products non ha caratterizzato gli effetti della presenza degli anticorpi terapeutici sulle prestazioni di questo reagente.
3. I reagenti possono essere utilizzati in differenti combinazioni, pertanto i laboratori dovrebbero diventare familiari con le caratteristiche di prestazione di ogni anticorpo in relazione con i marcatori combinati in campioni normali e anormali.
4. I dati della prestazione del reagente è basata su sangue trattato con EDTA. La prestazione del reagente può essere alterata dall'uso di altri anticoagulanti.

## Reagenti e materiali richiesti ma non forniti

1. Citometro a flusso
2. Provette tappate in polistirene per citometria a flusso 12 x 75 mm per test.
3. Micropipette con puntali monouso.
4. Vortex mixer
5. Centrifuga
6. IQ Lyse - erythrocyte lysing solution (IQP-199)
7. IQ Starfiqs - fixation and permeabilization solution (IQP-200)
8. PBS (phosphate-buffered saline)
9. Soluzione di formaldeide all'1% in PBS (conservare a 2-8 °C in vetro ambrato fino a 1 settimana)

## Colorazione di immunofluorescenza e protocollo di lisi

### - A - Metodica in citometria a flusso per l'utilizzo degli anticorpi monoclonali purificati

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (es. circa 10<sup>6</sup> leucociti) in provetta per test da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere ad ogni provetta 10 µl di anticorpo monoclonale purificato \*. Vortexare la provetta per miscelare l'anticorpo con le cellule.
3. Incubare la provetta per 15 minuti al buio a temperatura ambiente.
4. Lavare le cellule marcate aggiungendo 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina, vortexare 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 fluorescente [FITC (IQP-190F) o R-PE (IQP-190R)] diluito 1:10 in PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina per provetta. Si raccomanda di proteggere la provetta dalla luce.
6. Miscelare con vortex e incubare per 15 minuti a temperatura ambiente e 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 al buio.
9. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata ed 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 (alternativamente, le cellule potrebbero essere fissate con formaldeide allo 0.05% in tampone salino per analizzarle il giorno dopo. Alcuni antigeni sono rapidamente distrutti dopo fissazione e questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si usa questa alternativa).

- B - Metodica in citometria a flusso per l'utilizzo di anticorpi monoclonali marcati (FITC, R-PE, CyO, APC, PerCP or PerCP-Cy5.5)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (es. circa 10<sup>6</sup> leucociti) nella provetta per il test da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere ad ogni provetta 10 µl di anticorpo monoclonale coniugato\*. Vortexare la provetta per una miscelazione ottimale delle cellule e dell'anticorpo.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente al buio.
4. Aggiungere 100 µl di 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 ed incubare per 10 minuti 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 potrebbero essere fissate con formaldeide allo 0.05% in tampone salino per analizzarle il giorno dopo. Alcuni antigeni sono rapidamente distrutti dopo fissazione e questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si usa questa alternativa).

- C - Metodica in citometria a flusso per l'utilizzo di doppie e triple combinazioni

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (es. circa 10<sup>6</sup> leucociti) nella provetta da 5 ml. Il contenuto di ogni provetta è sufficiente per eseguire un test.  
**Per combinazioni con anti-kappa e/o anti-lambda Ig vedere la nota applicativa qui sotto.**
2. Aggiungere ad ogni provetta 20 µl della combinazione di anticorpo monoclonale.\*
3. Vortexare la provetta per miscelare bene le cellule e gli anticorpi.
4. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente ed al buio.
5. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente al buio.
7. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata ed incubare per 10 minuti al buio.
8. Centrifugare la sospensione delle cellule marcate 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 (alternativamente, le cellule potrebbero essere fissate con formaldeide allo 0.05% in tampone salino per analizzarle il giorno dopo. Alcuni antigeni sono rapidamente distrutti dopo fissazione e questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si usa questa alternativa).

\* *Appropriati campioni di controllo isotipico mouse Ig dovrebbero essere sempre inclusi in ogni studio di marcatura*  
\*\* *PBS: Tampone Fosfato Salino, pH 7.2*

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

Aggiungere 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina (**preriscaldato a 37 °C**) alla sospensione cellulare

Vortexare, centrifugare (2 min a 300x g) e scartare il surnatante  
Ripetere questo passaggio 2 volte

Risospendere il pellet delle cellule del sangue in 100 µl PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina



**Manipolazione e conservazione**

Gli anticorpi sono forniti sia per 100 tests per fiala (1 ml) o 50 tests per fiala (1 ml) per le doppie e triple combinazioni. Essi sono forniti in 0.01 M di fosfato di sodio, 0.15 M NaCl; pH 7.3, 0.2% BSA, 0.09% sodio azide (NaN<sub>3</sub>). Conservare le fiale a 2-8 °C. gli anticorpi monoclonali dovrebbero essere protetti da lunghe esposizioni alla luce. I reagenti sono stabili per il periodo indicato sull'etichetta quando conservato correttamente.

**Garanzia** I prodotti venduti qui di seguito sono garantiti solo per essere conformi alla quantità ed ai contenuti dichiarati in etichetta al tempo della spedizione al cliente. Non ci sono garanzie, espresse o implicite che si estendono oltre la descrizione sull'etichetta del prodotto. IQ Products non è responsabile dei danni alla proprietà, ai danni personali o economiche perdite causate 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. Dati rappresentativi di citometria a flusso sono inclusi in questo foglio illustrativo.

**Attenzione** Tutti i prodotti contengono Sodio Azide. Questo prodotto è velenoso e pericoloso. Dovrebbe essere maneggiato solo da personale specializzato.

## Referenze

1. Characterization of an antigen that is recognized on a melanoma showing partial HLA loss by CTL expressing an NK inhibitory receptor. 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. Functional effect of CD2 and CD3 antibodies. Görög, G., Batory, G., Lanzavecchia, A., 1987.
3. Analysis of the activation signals induced by CD3 antibodies and their role in T-cell proliferation. Wallace, DL., Mancintyre, EA., Linch, DC., Beverley, PCL. 1987.
4. Activation of human thymocytes via CD3 and CD2 molecules. Denning, S.M., Tuck, D.T., Singer, K.H., Haynes, B.F. 1987.
5. Analysis by flow cytometry of tyrosine-phosphorylated proteins in activated T-cell subsets on whole blood samples. Hubert, P., Grenot, P., Autran, B., Debré, P. 1997.
6. T cells from patients with Hodgkin's disease have a defective T-cell receptor zeta chain expression that is reversible by T-cell stimulation with CD3 and CD28. Renner, C., Ohnesorge, S., Held, G., Bauer, S., Jung, W., Pfitzenmeier, Pfreundschuh, M. 1996.
7. Expression of the IL-2 receptor gamma subunit in resting human CD4 T lymphocytes : mRNA is constitutively transcribed and the protein stored as an intracellular component. Bani, L., David, D., Moreau, J.L., Cayota, A., Nakarai, T., Ritz, J., Thèze, J. 1997.
8. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. Autran, B., Carcelain, G., Li, T.S., Blanc, C., Mathez, D., Tubiana, R., Katlama, C., Debré, P., Leibowitch, J. 1997.
9. CD designations and commercially available antibodies. Leong, A.S.Y. 1993
10. Evidences for protein kinase C. Activation in T lymphocytes by stimulation of either the CD2 or CD3 antigens. Friedrich, B., Cantrell, D.A., Gullberg, M. 1989.

## Spiegazione dei simboli utilizzati



Consultare le istruzioni per l'uso



Numero di catalogo



Sufficiente per



Per Uso Diagnostico in Vitro



Attenzione ,consultare il documento di accompagnamento



Tenere lontano da (sole)luce



Rischio Biologico



Temperature limite (°C)



Solo per Uso RICerca



Codice lotto



Scadenza anno-mese-giorno



Produttore



Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea



Conformità Europea (European Conformity)

	<b>Conjugati</b>		<b>Ex -max (nm)</b>	<b>Em -max (nm)</b>
P	PURE	Unconjugated antibody	-	-
F	FITC	Fluorescein Isothiocyanate	488	519
R	R-PE	R-Phycoerythrin	488, 532	578
C	CyQ	Tandem conjugate of R-PE-and Cy5.18	488, 532	667
A	APC	Allophycocyanin	595, 633, 635, 647	660
D	Dy-410	Violet Dye 410	405	460
PC	PerCP	Peridinin-chlorophyll-protein	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](mailto:marketing@iqproducts.nl)



Orders [orders@iqproducts.nl](mailto:orders@iqproducts.nl)



[www.iqproducts.nl](http://www.iqproducts.nl)

