

PRODUCT INFORMATION SHEET

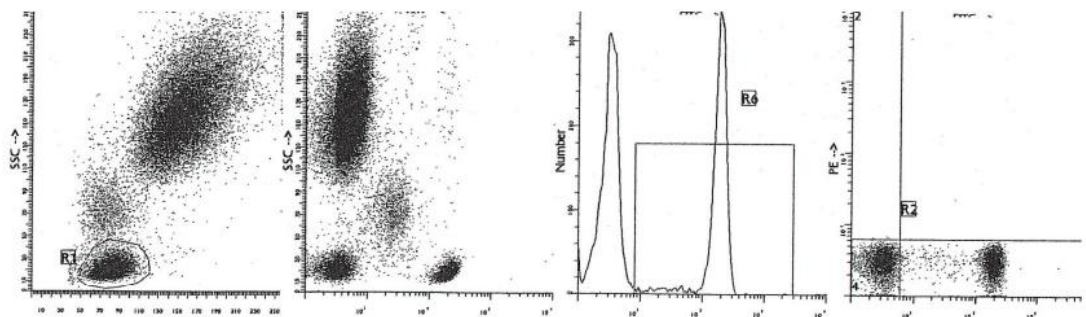
Monoclonal antibodies detecting human antigens

CD4

PURE	RUO	REF	IQP-535P	▼	100 tests
FITC	IVD	REF	IQP-535F	▼	100 tests
R-PE	IVD	REF	IQP-535R	▼	100 tests
CyQ	IVD	REF	IQP-535C	▼	100 tests
APC	IVD	REF	IQP-535A	▼	100 tests
Dy-410	RUO	REF	IQP-535D	▼	100 tests
PerCP	RUO	REF	IQP-535PC	▼	100 tests

IVD  **Per Uso Diagnostico in Vitro**
RUO **Per Uso Ricerca**

	Descrizione
Clone	Edu-2
Isotipo	murino IgG2a
Specificità	CD4 (Edu-2) riconosce l'antigene del CD4 (una glicoproteina di 55 kD).
Distribuzione antigenica	L'antigene del CD4 è presente sulla maggior parte dei Timociti e su una sottopopolazione delle cellule T del sangue periferico, chiamate cellule T Helper (Th). In aggiunta CD4 è espresso sui Monociti e debolmente sui Macrofagi.
Sommario	CD4 gioca un ruolo nel riconoscimento di antigeni estranei presentati alle cellule T dalle molecole MHC di classe II . Inoltre, questo antigene agisce come un recettore per il legame della proteina virale gp120 dell' HIV-1.
Applicazione	Per citometria a flusso e per immunocistochemica utilizzando sezioni di tessuto congelati o inclusi in paraffina. CD4 (Edu-2) è utilizzato nei test di routine del sangue per le cellule CD4+ e per la ratio CD4/CD8 (es. Nei pazienti HIV/AIDS) o come parte di un pannello per la determinazione e differenziazione di certe Leucemie a cellule T. CD4 è anche utilizzato in studi di attività funzionale delle cellule Th nelle infezioni batteriche e virali, nello sviluppo di malattie auto-immune ,di rigetto dei trapianti, nella protezione immune in risposta agli allergeni o alla reattività allergenica.
Utilizzo	Tutti questi reagenti sono effettivamente formulati per colorazione di immunofluorescenza diretta di tessuti umani per analisi di citometria a flusso, utilizzando 10 µl/10 ⁶ di leucociti per le singole e 20 µl/10 ⁶ leucociti in caso di doppie e triple combinazioni. Nel caso di applicazioni diverse ,ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere il risultato ottimale.
HLDA Workshop	5 th Leukocyte Typing - Schlossman, S.F., et al., eds. Oxford University Press, New York (1995)
Dati rappresentativi	Sono illustrate analisi di citometria a flusso di normali cellule del sangue colorate con l'anticorpo monoclonale clone Edu-2 (CD4).La colorazione indiretta è stata eseguita utilizzando 10 µl di anticorpo monoclonale purificato coniugato con RaM FITC e 100 µl di campione di sangue.



Reproducibilità

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
CD4 FITC	10	45.36	5.20	11.46	IQP-535F
CD4 R-PE	10	47.18	5.20	11.02	IQP-535R
CD4 CyQ	10	47.51	5.01	10.55	IQP-535C
CD4 APC	10	46.10	5.08	11.03	IQP-535A

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 Starfix - 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 10⁶ 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)₂ 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 temperature 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 temperature 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, CyQ, APC, PerCP or PerCP-Cy5.5)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (es. circa 10⁶ 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 10⁶ 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 di 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 (NaN₃). 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. Carrière, D., et al., 1995, In: Leukocyte Typing V: 475-476. S.F. Schlossman, L. Bousmell, W., et al., eds. Oxford University Press, New York
2. Piatier-Tonneau, D., et al., 1995, In: Leukocyte Typing V: 476-478. S.F. Schlossman, L. Bousmell, W. Gilks, et al., eds. Oxford University Press, New York
3. Kaneoka, H. et al., 1983. J. Immunol., 131: 158
4. Lanier, L.L., et al., 1986. J. Immunol., 137: 2501
5. Knowles, R.W., 1986. In: Leukocyte Typing II : 259-288; E.L. Reinherz, B.F. Haynes, L.M. Nadler/ and I.D. Bernstein, eds. Springer-Verlag, New York
6. Friedrich, W., 1982. Blood, 59: 696
7. Allison, J.P. and Lanier, L.L., 1987. Ann. Rev. Immunol., 5: 503

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)

			Ex -max (nm)	Em -max (nm)
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
 Orders orders@iqproducts.nl
 www.iqproducts.nl

