

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD18

FITC RUO REF IQP-555F ▼ 100 tests

RUO

Ad esclusivo uso di ricerca



Descrizione

Clone MEM-48

Isotipo murino IgG1

Specificità CD18, principalmente conosciuto come parte dell'antigene-1 di funzione associata linfocitario -1 (LFA-1), è una proteina di membrana di 90-95 kDa di tipo I espressa su tutti i Leucociti. L'anticorpo MEM-48 riconosce un epitopo che coinvolge i residui 534-546 ricche di cisteina ripetuta 3 volte dell'antigene CD18 (subunità dell'integrina beta2 ; beta2 integrina). Questa integrina beta-2 proteina è codificata dal gene ITGB2 negli umani.

Distribuzione Antigenica

CD18, subunità dell'integrina beta2, forme eterodimere con quattro tipi di molecola del CD11 per costituire le integrine del leucocita (beta2): alfa L beta2 (CD11a/CD18, LFA-1), alfa M beta2 (CD11b/CD18, antigene del Macrofago-1 (Mac-1), CR3), integrine alfaXbeta2 (CD11c/CD18) e integrine alfa D beta2 (CD11d/CD18).

Nella maggior parte dei casi, la risposta mediata dall'integrina è un composto delle funzioni delle subunità individuali. Queste integrine sono essenziali per una corretta migrazione leucocitaria che viene mediata dai contatti intercellulari. Nell'umano la perdita di CD18 causala Deficienza d'Adesione Leucocitaria, una malattia definita da una perdita di Leucociti extravasale dal sangue ai tessuti.

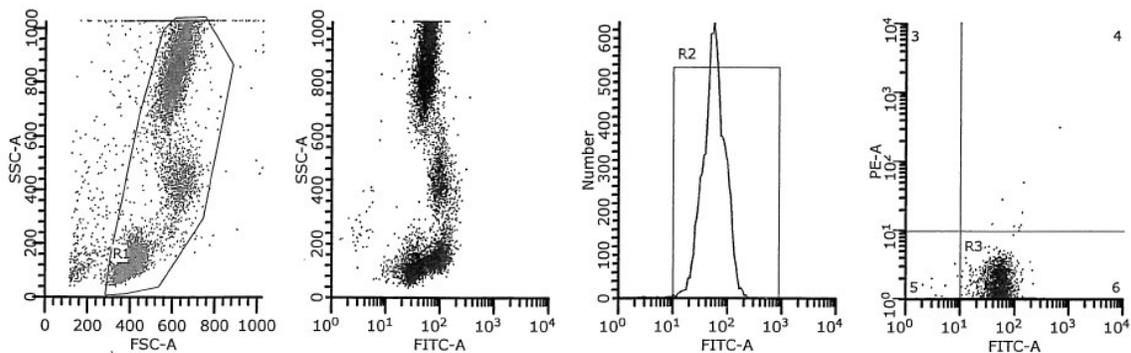
Summario L'antigene del CD18 associato con l'isoforma a,b,c,d del CD11 è espresso sui linfociti, monociti e molto più debolmente sui granulociti.

Applicazioni MEM-48 può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue e midollo osseo, o in immunistoichimica utilizzando 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.

Dati rappresentativi

La colorazione di anticorpi monoclonali clone MEM-48 (CD18) è illustrata da analisi di citometria a flusso di normali cellule del sangue. 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, avranno una separazione più grande di quelli coniugati con FITC e CyQ. Quando le popolazioni si sovrappongono, la percentuale delle cellule positive usando un marker selezionato può essere influenzata dalla scelta del fluorocromo utilizzato.
2. L'utilizzo di anticorpi monoclonali in pazienti in trattamento, può interferire con il riconoscimento dell'antigene bersaglio a causa di questo reagente. Questo dovrebbe essere tenuto in considerazione quando vengono analizzati campioni di pazienti trattati in terapia con anticorpi monoclonali. IQ Products non ha caratterizzato l'effetto della presenza di anticorpi terapeutici sulla prestazione di questo reagente.
3. I reagenti possono essere utilizzati in differenti combinazioni, quindi è necessario che i laboratori diventino familiari con le caratteristiche di prestazione di ogni anticorpo in relazione con i marcatori combinati in campioni normali e anormali.
4. Il dato della prestazione del reagente è basato su sangue trattato con EDTA. La prestazione del reagente può essere influenzata dall'uso di altri anticoagulanti.

Reagenti e materiali richiesti ma non forniti

1. Citofluorimetro
2. Provette di polistirene con tappo per analisi al citofluorimetro 12 x 75-mm
3. Micropipette con puntali monouso
4. Agitatore Vortex
5. Centrifuga
6. IQ Lyse – soluzione lisante per eritrociti (IQP-199)
7. IQ Starfiqs – soluzione fissativa e permeabilizzante (IQP-200)
8. PBS (tampone fosfato salino)
9. 1% soluzione di paraformaldeide in PBS (conservare a 2-8 °C in vetro ambrato fino ad 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 (per esempio circa 10⁶ leucociti) ad una provetta 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*. Agitare la provetta con il vortex per una perfetta miscelazione delle cellule e dell'anticorpo.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente e al buio.
4. Lavare le cellule marcate aggiungendo 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) Eparina, agitare con il vortex e centrifugare (2 min 1000 x g) e scartare il surnatante.
5. Aggiungere 50 µl di 1:10 diluizione di IQ Products F(ab)₂ Rabbit Anti Mouse IgG coniugato fluorescente, [FITC (IQP-190F); R-PE (IQP-190R)] in PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina per la provetta. Si raccomanda che la provetta sia protetta dalla luce.
6. Miscelare con il vortex e incubare per 15 minuti a temperatura ambiente e al buio.
7. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
8. Incubare per 10 minuti a temperatura ambiente e 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 dopo la fissazione e questo deve essere tenuto in considerazione quando si utilizza questa alternativa).

- B - Metodica citofluorimetrica per l'uso di anticorpi monoclonali coniugati con (FITC, R-PE, Cy-Q, APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (per esempio circa 10⁶ leucociti) nella provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
2. Aggiungere in ogni provetta 10 µl di anticorpo marcato*. Agitare la provetta con il vortex per assicurare una buona miscelazione di anticorpo e cellule.
3. Incubare la provetta per 15 minuti a temperatura ambiente e 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 e al buio.
6. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
7. Centrifugare la sospensione cellulare marcata 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 (in alternativa, le cellule dovrebbero essere fissate con formaldeide allo 0.05% in tampone salino per analizzare il giorno successivo). Con la fissazione alcuni antigeni vengono subito distrutti e questo fatto dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si usa questa alternativa

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

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ad esempio 10⁶ leucociti) nella provetta da 5 ml. Il contenuto di una provetta è sufficiente per eseguire un test.
Per combinazioni con Ig anti-kappa e/o anti-lambda Ig vedi nota applicativa qui sotto.
2. Aggiungere a ogni provetta 20 µl di anticorpi monoclonali combinati*.
3. Agitare con il Vortex la provetta per assicurarsi una perfetta miscelazione delle cellule con gli anticorpi
4. Incubare la provetta per 15 minuti a temperature ambiente al buio.
5. Aggiungere 100 µl di IQ Lyse (IQP-199 pronto all'uso) e miscelare immediatamente.
6. Incubare per 10 minuti a temperature ambiente al buio.
7. Aggiungere 2 ml di acqua demineralizzata e incubare per 10 minuti al buio.
8. Centrifugare la sospensione cellulare marcata 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 formaldeide allo 0.05% in tampone salino per analizzare il giorno successivo). Con la fissazione alcuni antigeni vengono subito distrutti e questo fatto dovrebbe essere tenuto in considerazione quando si usa questa alternativa.

* *Appropriati campioni di mouse Ig isotipo per controllo 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

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

Miscelare su vortex, centrifugare (2 min a 300x g) ed eliminare il surnatante

Ripetere il passaggio 2 volte

Risospendere le cellule ematiche in 100 µl di PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina



Manipolazione e Conservazione

Gli anticorpi sono forniti per 100 test per fiala (1 ml) per la singola marcatura o 50 tests per fiala I (1 ml) per le doppie e triple combinazioni. Essi sono forniti in 0.01 M di sodiofosfato, 0.15 M NaCl; pH 7.3, 0.2% BSA, 0.09% sodioazide (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 mostrato sull'etichetta della fiala quando conservati accuratamente.

Garanzia

I prodotti venduti qui di seguito sono garantiti solo per conformità alla e al contenuto dichiarato sull'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 per danno alla proprietà, ferita 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 alle caratteristiche di un reagente standard. Il dato citofluorimetrico rappresentativo è incluso in questo foglio illustrativo.

Attenzione

Tutti i prodotti contengono Sodio Azide. Questo prodotto chimico è velenoso e pericoloso. La manipolazione dovrebbe essere fatta solo da personale esperto.

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
 Orders orders@iqproducts.nl
 www.iqproducts.nl

 **Products**
bright fluorescence