

FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

CD24

Pure	RUO	REF	IQP-559P	▽	100 tests
PE	RUO	REF	IQP-559R	▽	100 tests

RUO
Ad esclusivo uso di ricerca


Descrizione

Clone SN3

Isotipo murino IgG1

Specificità L'anticorpo (SN3) riconosce un antigene di superficie cellulare PGI-ancorata conosciuta come antigene stabile al calore (HSA) o nectadorina.

Distribuzione Antigenica

CD24 è espresso sui Granulociti, sui Linfociti B e da alcune cellule T attivate e cellule T maligne, ma non sui Timociti.

Sommario

Come menzionato sopra, CD24 è una glicoproteina espresso su parecchi tipi di cellule ematopoietiche. E' stata descritta come essere il ligando per P-selectina e può agire come un cancello che trattiene come zattera di salvataggio i lipidi e quindi regolando l'attività delle integrine. Sulle cellule B esso comincia ad apparire quando le cellule sono attivate e indotte per ulteriore maturazione. CD24 triggering induce apoptosi dei precursori delle cellule B ma non nelle cellule mature resting B, dove invece inibisce la loro abilità a proliferare nella risposta di attivazione. L'espressione del CD24 è associata con le prognosi più cattive e invasive di carcinoma ed è un marcatore di esosomi secreti nelle urine e nel fluido amniotico.

Utilizzo

Tutti questi reagenti sono effettivamente formulate 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.

Applicazioni

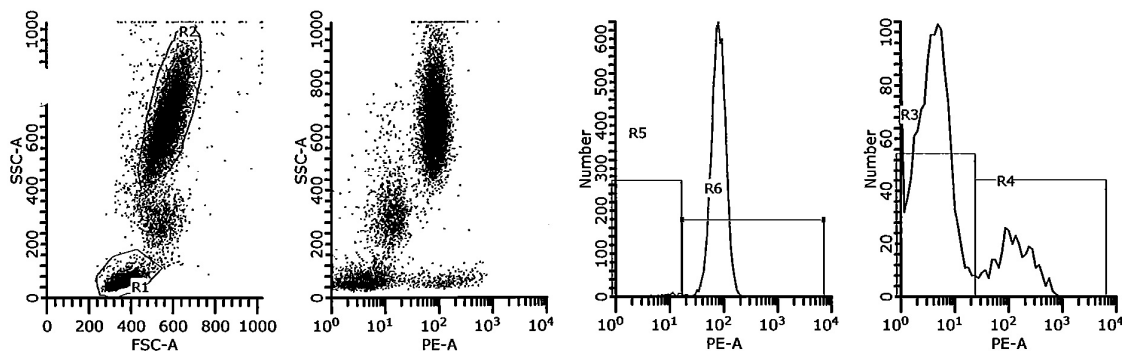
CD24 può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue o in immunoistochimica su sezioni congelate.

HLDA Workshop

Leukocyte Typing IV., Knapp W. et al. (Eds.), Oxford University Press (1989).
Leukocyte Typing V., Schlossman S. et al. (Eds.), Oxford University Press (1995).

Dati rappresentativi

Sono illustrate analisi in citometria a flusso di normali cellule del sangue di anticorpi monoclonali colorati con CD24 (SN3). Colorazioni dirette sono state fatte utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con PE e 100 µl di campione di sangue. L'istogramma a sinistra mostra il segnale del CD24 PE sui granulociti e l'istogramma di destra mostra il segnale del CD24 PE sui linfociti.



Limitazioni

1. I coniugati con fluorocromi più brillanti quali PE e APC, presenteranno una maggiore separazione rispetto ai coniugati con i fluorocromi quali FITC, CyQ e PerCP. Quando le popolazioni si sovrappongono, il calcolo della percentuale delle cellule positive per un determinato marcatore può essere influenzato dalla scelta del fluorocromo.
2. L'utilizzo di anticorpi monoclonali nel trattamento di pazienti può interferire con il riconoscimento degli antigeni bersaglio da parte di questo reagente. Questo dovrebbe essere preso in considerazione quando i campioni analizzati sono 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 anormali.
4. I dati relativi all'attività del reagente si basano su sangue trattato con EDTA. L'attività del reagente può essere influenzata se vengono utilizzati altri anticoagulanti.

Reagenti e materiali richiesti ma non forniti

1. Citometro a flusso
2. Provetta da test con tappo in polistirene monouso 12 x 75 mm per citometro a flusso
3. Micropipetta con puntali 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 di immunofluorescenza 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 circa 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*. Agitare la provetta con il Vortex 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 Vortex e centrifugare per 2 min a 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 con il Vortex 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, CyQm, PerCP, PerCP-Cy5.5 o APC)

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero circa 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*. Agitare la provetta con il Vortex 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 circa 10⁶ leucociti) ad un 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 10 µl di anticorpo monoclonale purificato*.
3. Agitare la provetta con il Vortex 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 isotipo saranno sempre inclusi in qualsiasi studio di identificazione

** PBS: soluzione salina di tampone fosfato, pH 7.2

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

Aggiungere 2 ml di PBS contenente 0.001% (v/v) di Eparina (preriscaldata a 37 °C) alla sospensione cellulare
Miscelare con vortex, centrifugare (2 min a 300x g) e scartare il surnatante .
Ripetere questo 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) per combinazioni singole o fiala per 50 test (1mL) 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.

Referenze

1. Barcos M, et al. 1986. Hematol Oncol. Oct-Dec;4(4):251-9.
2. Fukukawa T, et al. 1986. Exp Hematol. Oct;14(9):850-5.
3. Suzuki T, et al. 2001. J Immunol. May 1;166(9):5567-77.
4. Chou YY, et al. 2007. Ann Surg Oncol. Oct;14(10):2748-58.
5. Leukocyte Typing IV., Knapp W. et al. (Eds.), Oxford University Press (1989).
6. Leukocyte Typing V., Schlossman S. et al. (Eds.), Oxford University Press (1995).

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 tech@iqproducts.nl
Orders orders@iqproducts.nl
www.iqproducts.nl

Products

Bright fluorescence