

## FOGLIO INFORMATIVO SUL PRODOTTO

### Anticorpi monoclonali rilevanti antigeni umani

#### CD157

PURE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-563P	▽	100 tests
R-PE	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">RUO</span>	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">REF</span>	IQP-563R	▽	100 tests

RUO
**Ad esclusivo uso di ricerca**


#### Descrizione

##### Clone

SY/11B5

##### Isotipo

murino IgG1, kappa

##### Specificità

SY/11B5 riconosce la glicoproteina CD157 di 42-45kD GPI-ancorata alla superficie cellulare, anche conosciuta come antigene 1 o BST1 della cellula stromale del midollo osseo.

#### Distribuzione dell'antigene

CD157 fu inizialmente identificato come una glicoproteina di superficie cellulare stromale. Inoltre, CD157 è espresso sulle cellule della linea mieloide, includendo granulociti e monociti. Successivi studi hanno mostrato l'espressione del CD157 sulle cellule dendritiche sinoviali, endoteliali vascolari e follicolari come pure altri tipi di cellule che includono fibroblasti del derma e mastociti umani.<sup>1,2</sup>

Recentemente, CD157 è stato anche identificato sulle cellule epitaliali del cancro ovarico.<sup>3</sup>

#### Riepilogo

CD157/BST-1 è una proteina GPI-ancorata che fa parte della famiglia del gene del CD38 e condivide struttura e funzionalità omologhe con CD38. CD157 funzionalmente gioca un doppio ruolo essendo sia un recettore coinvolto nel segnale di trasduzione sia un ectoenzima coinvolto nel clivaggio extracellulare del NAD<sup>+</sup>.<sup>1,2</sup> Negli ultimi anni l'espressione del CD157 è stata associata a diverse malattie quali l'artrite reumatoide ed il carcinoma ovarico.<sup>3</sup> Inoltre le analisi del CD157 sui monociti e granulociti hanno dimostrato essere un utile mezzo per le diagnostiche di emoglobinuria parossistica notturna<sup>5</sup>.

#### Applicazioni

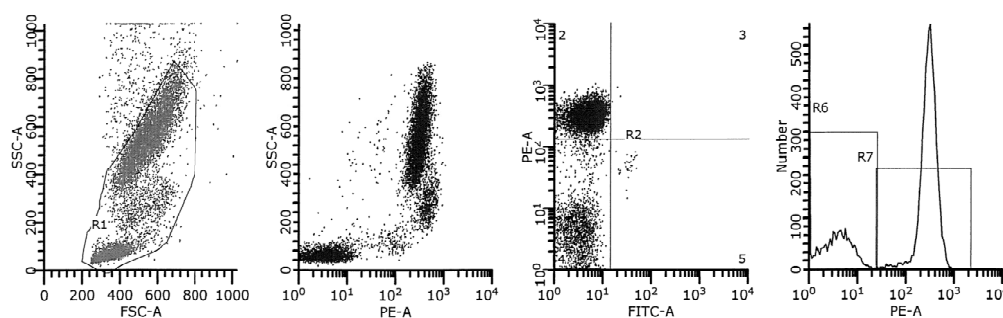
Tutti questi reagenti sono effettivamente formulate per la colorazione di immunofluorescenza diretta dei tessuti umani per analisi di citofluorimetria utilizzando 10 ul/10<sup>6</sup> di cellule per la singole e 20 ul/10<sup>6</sup> cellule in caso di doppie e triple combinazioni. A seconda delle varie applicazioni, ogni utilizzatore dovrebbe titolare il reagente per ottenere i risultati ottimali.

#### Utilizzo

SY/11B5 può essere applicato in citometria a flusso per analisi di campioni di sangue periferico. Gli anticorpi CD157 sono utilizzati in citometria a flusso per analizzare l'espressione delle proteine GPI-ancorate sulle cellule mieloidi (monociti e granulociti).

#### Dati Rappresentativi

La colorazione di anticorpi monoclonali con il clone SY/11B5 (CD157) è illustrata da analisi di citometria a flusso su cellule di sangue normale. La colorazione diretta è stata fatta utilizzando 10 µl di anticorpo coniugato con R-PE con 100 µl di campione di sangue.



## Reproducibilità

Gli anticorpi monoclonali prodotti da 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 linfociti di sangue periferico. I valori sono espressi in termini di % della conta dei linfociti totali (vedi tabella).

Reagente	n	Mean % positive	S.D.	% CV	Codice prodotto
CD157 R-PE	10	69,18	4,11	5,94	IQP-563R

## Limitazioni

1. I coniugati con fluorocromi più brillanti quali PE e APC, presenteranno una maggiore separazione rispetto ai coniugati con i fluorocromi quali FITC e CyQ. 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 necessari ma non in dotazione

- 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 immunofluorescente 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 10<sup>6</sup> leucociti) ad un 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)<sub>2</sub> 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 questo dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

**- B - Metodo di citometria a flusso per anticorpi monoclonali coniugati (FITC, R-PE, CyQ o APC)**

1. Aggiungere 100 µl di sangue trattato con EDTA (ovvero circa 10<sup>6</sup> leucociti) ad un 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 coniugato\*. 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 questo 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 10<sup>6</sup> 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 20 µl di anticorpi monoclonali coniugati\*.
3. Agitare la provetta con il Vortex per garantire un'accurata miscelazione di anticorpi 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 questo dovrà essere considerato nel caso si ricorra a questa alternativa).

\*A campioni di controllo di isotipo Ig di topo saranno sempre inclusi in qualsiasi studio di identificazione

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

**Nota applicativa per combinazioni di Ig antikappa e/o antilambda**

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

Agitare con Vortex, centrifugare (2 min a 300x g) e rimuovere il surnatante

Ripetere il passaggio 2 volte

Risospesare le cellule ematiche risultanti 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 (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 (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 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.

## Riferimenti bibliografici

1. Malavasi F. et al 2008 *Physiol Rev.* 88(3):841-86.
2. Quarona V. et al 2013 *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)* 84B:207-217
3. Ortolan E. et al 2010 *J Natl Cancer Inst.* 102(15):1160-77
4. Shimaoka Y et al 1998 *J Clin Invest.* 102(3):606-18.
5. Sutherland D. R. et al 2013 *Cytometry B Clin Cytom.* *In press.*

## 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](mailto:marketing@iqproducts.nl)  
 Orders [orders@iqproducts.nl](mailto:orders@iqproducts.nl)  
 [www.iqproducts.nl](http://www.iqproducts.nl)