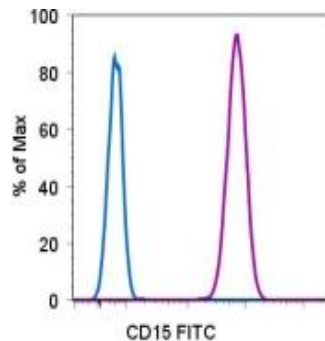


CD15 FITC

Également connu sous le nom : Leu-M1


Catalog Number(s) : 9011-0158-025 (25 tests), 9011-0158-120 (120 tests)



Profils de fluorescence de granulocytes de sang périphérique humain normal non marqués (histogramme bleu) ou marqués avec CD15 FITC (histogramme violet).

Informations sur le produit

Contenu : CD15 FITC

 **Catalog Number(s)** : 9011-0158-025 (25 tests), 9011-0158-120 (120 tests)

Clone : MMA

Concentration : 5 µL (0,125 µg)/test (un test se définit comme la quantité qui marquera 1 x 10⁶ cellules dans 100 µL)

Hôte/Isotype : Souris IgM

Formulation : Tampon aqueux, solution d'azide de sodium à 0,09 %, peut contenir de la protéine-support/du stabilisant.



Storage Conditions : Entreposer entre 2 et 8°C.

Ne pas congeler.



Produit photosensible.



Attention, contient de l'azide



Manufacturer : eBioscience, Inc., 10255 Science Center Drive, San Diego, CA 92121, USA



Authorized Representative : Bender MedSystems GmbH, an eBioscience Company Campus Vienna Biocenter 2 A-1030 Vienna Austria

Utilisation prévue

L'anticorps monoclonal MMA conjugué à un fluorochrome réagit avec l'antigène CD15 humain. Le CD15 peut être détecté dans des échantillons biologiques humains à l'aide de différentes techniques immunologiques.

Principes du test

La cytométrie en flux permet de mesurer simultanément plusieurs propriétés physiques individuelles de particules (cellules, par exemple). Les cellules défilent devant un faisceau laser. Au fur et à mesure que chaque cellule passe devant le faisceau laser, le cytomètre enregistre les différents signaux

optiques (absorption, diffusion, réfraction, fluorescence) que chaque cellule émet. La technique de cytométrie en flux permet une analyse simultanée de l'expression de plusieurs molécules de surface au niveau de chaque cellule.

Description

L'anticorps monoclonal MMA réagit au CD15 humain, Lewis X. Ce groupe carbohydrate 3-fucosyl-N-acétyllactosamine est exprimé par les granulocytes. Les monocytes expriment cette structure à divers degrés tandis que les lymphocytes sont négatifs.

Prélèvement de spécimen et instructions d'entreposage

Prélever un échantillon de sang veineux par veinopuncture dans un tube de prélèvement sanguin stérile en utilisant un anticoagulant approprié (un anticoagulant EDTA est recommandé). Conserver les échantillons à la température ambiante (entre 18 et 25°C). Avant l'utilisation, mélanger les échantillons en les agitant doucement.

Matériaux nécessaires mais non fournis

- Tubes à essais de 12 x 75 mm
- Tampons de marquage (le tampon de marquage pour cytométrie en flux eBioscience, No Cat. 00-4222 est recommandé)
- Tampon de lyse (le tampon de lyse 1X RBC de eBioscience, No Cat. 00-4333 ou la solution complète Fix/Lyse de eBioscience (10X), No Cat. 00-5333 sont recommandés)
- Pour un marquage intracellulaire, utiliser le tampon de fixation IC et le tampon de perméabilisation, No Cat. 88-8823 (marquage de protéine cytoplasmique ou cytokine intracellulaire) ou l'ensemble tampon Foxp3, No Cat. 00-5523 (pour marquage de nucléoprotéine). Se reporter à la section Protocoles recommandés du site Web de eBioscience où figurent les protocoles de « Marquage d'antigènes intracellulaires pour une cytométrie en flux ».
- Tampon de marquage de viabilité (la solution de marquage de viabilité 7-AAD, No Cat. 00-6993 ou la solution de marquage à l'iodure de propidium, No Cat. 00-6990 sont recommandées)
- Pipettes automatisées
- Centrifugeuse
- Agitateur-mélangeur vortex
- Boîte à glace ou réfrigérateur
- Cytomètre de flux

Protocole de test

REMARQUE : Pour le marquage intracellulaire, se reporter à la section Protocoles recommandés du site Web de eBioscience où figurent les protocoles de « Marquage d'antigènes intracellulaires pour la cytométrie en flux ».

1. Aliquoter 100 µL de l'échantillon dans des tubes.
2. Ajouter 5 µL de l'anticorps approprié dans chaque tube.
3. Incuber pendant 30 à 60 minutes entre 2 et 8 °C. Les échantillons peuvent également être incubés à la température ambiante à l'obscurité pendant 15 à 30 minutes.
4. Ajouter 2 mL de tampon de lyse 1X RBC (à la température ambiante) par tube. Mélanger

doucement. (Les échantillons peuvent également être incubés avec 2 mL de solution complète Fix/Lyse.)

5. Incuber les échantillons à l'obscurité à la température ambiante pendant 10 minutes. Ne pas incuber plus de 15 minutes avec le tampon de lyse RBC.
6. Centrifuger les échantillons à 300-400 x g pendant 5 minutes à la température ambiante, décanter/aspirer le surnageant et laver 1 fois avec 2 mL de tampon de marquage pour cytométrie de flux.
7. Centrifuger les échantillons à 300-400 x g pendant 5 minutes à la température ambiante, décanter/aspirer le surnageant.
8. Re-suspendre la masse cellulaire marquée dans 1 mL de tampon colorant pour cytométrie en flux et analyser les échantillons sur un cytomètre de flux.

Limitations de la procédure

1. Pour assurer la performance optimale des anticorps monoclonaux conjugués à un fluorochrome, entreposer les flacons entre 2 et 8 °C à l'obscurité. Ne pas congeler.
2. Centrifuger le flacon d'anticorps avant de l'ouvrir pour en récupérer un volume maximal.
3. Sauf stipulation contraire du protocole, tout le marquage doit se faire sur glace ou entre 2 et 8 °C avec un minimum d'exposition à la lumière.

Caractéristiques de performance

Pour assurer la régularité de réactifs de haute qualité, tester chaque lot d'anticorps monoclonal pour en vérifier la conformité aux caractéristiques d'un réactif standard. Des données cytométriques de flux sont incluses le cas échéant.

Signes de détérioration

Adresser toutes questions relatives à la performance ou à la qualité de produits reçus au Service technique de eBioscience (voir plus bas).

Références

Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture (H3-A6), 3rd Edition published by the National Committee for Clinical Laboratory Standards.

Hanjan SN, Kearney JF, Cooper MD. A monoclonal antibody (MMA) that identifies a differentiation antigen on human myelomonocytic cells. Clin Immunol Immunopathol. 1982;23:172-188.

Knapp W, Dorken B, et al, eds. Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens. Oxford University Press. New York. 1989.