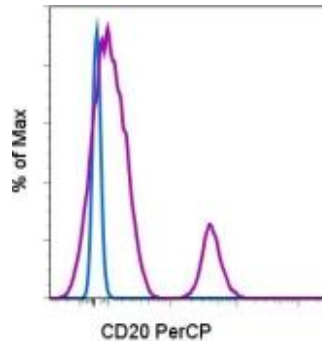


CD20 PerCP


Catalog Number(s): 9043-0209-025 (25 tests), 9043-0209-120 (120 tests)



Profili di fluorescenza di normali linfociti del sangue periferico umano non colorati (istogramma blu) o colorati con CD20 coniugati con PerCP (istogramma viola).

Informazioni sul prodotto

Indice: CD20 PerCP

 **Catalog Number(s):** 9043-0209-025 (25 tests), 9043-0209-120 (120 tests)

Clone: 2H7

Concentrazione: 5 µl (0,25 µg)/test (un test viene definito come la quantità in grado di colorare 1x10⁶ cellule in 100 µl)

Ospite/isotipo: IgG2b di topo, kappa

Workshop HLDA: II

Formulazione: Tampone acquoso, 0,09% di sodio azide; può contenere proteina carrier/stabilizzante.



Storage Conditions: Conservare a 2-8 °C. Non congelare.



Materiale fotosensibile.



Attenzione: contiene 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

Uso previsto

L'anticorpo monoclonale 2H7 coniugato con fluorocromo reagisce con l'antigene CD20 umano. Il CD20 può essere rilevato in campioni biologici umani mediante tecniche immunologiche.

Principi del test

La citometria a flusso è uno strumento utile per la misurazione simultanea delle diverse proprietà fisiche di singole particelle (come ad es., le cellule). Le cellule attraversano un raggio laser allineate una dietro l'altra. Per ogni cellula che attraversa il raggio laser il citometro registra il modo in cui la cellula o la particella disperdono la luce laser incidente ed emettono fluorescenza.

Mediante questo protocollo di analisi con citometria a flusso è possibile eseguire l'analisi simultanea delle molecole di superficie a livello della singola cellula.

Descrizione

L'anticorpo monoclonale 2H7 reagisce con il CD20 umano, una proteina transmembrana da 33-36 kDa. Il CD20 viene espresso dai linfociti B in via di sviluppo, oltre che dai linfociti B maturi, ma non dalle plasmacellule. Il CD20 è stato rilevato a bassi livelli su un piccolo sottoinsieme di linfociti T maturi. Si ritiene che il CD20 partecipi all'attivazione dei linfociti B.

Istruzioni per il prelievo e la conservazione dei campioni

Prelevare un campione di sangue venoso mediante venipuntura in una provetta sterile per la raccolta del sangue, utilizzando un anticoagulante appropriato (si consiglia di utilizzare EDTA). Conservare i campioni a temperatura ambiente (18-25 °C). Prima dell'uso, miscelare i campioni agitando delicatamente.

Materiali necessari ma non forniti

- Provette da 12 x 75 mm
- Tamponi (si consiglia eBioscience Flow Cytometry Staining Buffer, N. cat. 00-4222)
- Tampone di lisi (si consiglia eBioscience 1X RBC Lysis Buffer, N. cat. 00-4333 o eBioscience 1-step Fix/Lyse Solution (10X), N. cat. 00-5333)
- Per la colorazione intracellulare utilizzare IC Fixation Buffer e Permeabilization Buffer, N. cat. 88-8823 (colorazione per le citochine intracellulari o per le proteine citoplasmatiche) o Foxp3 Buffer Set, N. cat. 00-5523 (colorazione delle proteine nucleari). Fare riferimento alla sezione Best Protocols del sito web di eBioscience per i protocolli "Staining Intracellular Antigens for Flow Cytometry".
- Colorazione di vitalità (si consiglia 7-AAD Viability Staining Solution, N. cat. 00-6993 o Propidium Iodide Staining Solution, N. cat. 00-6990)
- Pipette automatiche
- Centrifuga
- Miscelatore Vortex
- Secchio con ghiaccio o frigorifero
- Citometro a flusso

Protocollo del test

NOTA: per la colorazione intracellulare, fare riferimento alla sezione Best Protocols del sito web di eBioscience per i protocolli "Staining Intracellular Antigens for Flow Cytometry".

1. Erogare 100 µl del campione di analisi nelle provette.
2. Aggiungere 5 µl dell'anticorpo appropriato in ciascuna provetta.
3. Incubare per 30-60 minuti a 2-8 °C. In alternativa, i campioni possono essere incubati al buio a temperatura ambiente per 15-30 minuti.
4. Aggiungere 2 ml di 1X RBC Lysis Buffer (a temperatura ambiente) ad ogni provetta. Miscelare delicatamente. (In alternativa, è possibile incubare i campioni con 2 ml di 1-step Fix/Lyse Solution).
5. Incubare i campioni al buio e a temperatura ambiente per 10 minuti. Con l'RBC Lysis Buffer non superare 15 minuti di incubazione.

6. Centrifugare i campioni a 300-400 x g per 5 minuti a temperatura ambiente, decantare/aspirare il surnatante e lavare 1 volta con 2 ml di Flow Cytometry Staining Buffer.
7. Centrifugare i campioni a 300-400 x g per 5 minuti a temperatura ambiente, decantare/aspirare il surnatante.
8. Risospendere il pellet di cellule colorate in 1 ml di Flow Cytometry Staining Buffer e analizzare i campioni con un citometro a flusso.

Limiti

1. Per una performance ottimale degli anticorpi coniugati con il fluorocromo, conservare le fiale al buio a 2-8 °C. Non congelarle.
2. Centrifugare la fiala con gli anticorpi per recuperare il massimo volume possibile.
3. Tranne quando riportato nel protocollo, tutte le colorazioni devono essere eseguite su ghiaccio oppure a 2-8 °C con una minima esposizione alla luce.

Caratteristiche della performance

La costanza della performance dei reagenti di alta qualità viene assicurata mediante l'analisi di ciascun lotto di anticorpi monoclonali per eseguire il confronto tra la loro conformità e le caratteristiche di un reagente standard. Quando ritenuto idoneo, vengono inclusi i dati rappresentativi della citometria a flusso.

Segni di deterioramento

Per qualsiasi domanda o dubbio riguardanti la performance o la qualità dei prodotti ricevuti, contattare l'assistenza tecnica di eBioscience (vedere di seguito).

Bibliografia

Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture (H3-A6), 3rd Edition published by the National Committee for Clinical Laboratory Standards.
Reinherz EL, et al. eds. Leukocyte Typing II (Vol. I, II, and III). Human Leukocyte Differentiation Antigens detected by Monoclonal Antibodies. 1985.
McMichael AJ, Beverly PCL, et al. eds. Leukocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens. Oxford University Press. New York. 1987.
Knapp W, Dorken B, et al. eds. Leukocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens. Oxford University Press. New York. 1989.
Schlossman S, Bloumsell L, et al. eds. Leukocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens. Oxford University Press. New York. 1995.