

# Monoklonální protilátka proti HLA-DR, konjugovaná s PE (HLA-DR PE)

Kat. č. ED7020

## 1. Určený účel prostředku

Reagencie HLA-DR PE je určena k identifikaci a počítání HLA-DR pozitivních leukocytů v lidské periferní krvi pomocí průtokové cytometrie.

## 2. Princip testu

Tento test je založen na specifické vazbě monoklonální protilátky na antigen, který je exprimovaný na povrchu leukocytů. Monoklonální protilátka je konjugovaná s fluorescenční značkou. Během analýzy vzorku průtokovým cytometrem je detekována fluorescence jednotlivých buněk. Rozdíly v intenzitě fluorescence buněk umožňují separovat skupiny leukocytů na základě rozdílné exprese analyzovaného antigenu. Specifické barvení leukocytů probíhá v periferní krvi. Po inkubaci vzorku se značenou protilátkou jsou červené krvinky odstraněny pomocí lyze a leukocyty jsou analyzovány průtokovým cytometrem.

## 3. Poskytované materiály

Reagencie obsahuje myši monoklonální protilátka proti lidskému antigenu HLA-DR (klon MEM-12), která byla purifikována a označena R-phycoerythrinem (PE). Značená protilátka byla naředěna na optimální koncentraci do stabilizačního roztoku, který obsahuje PBS a 15mM azid sodný. Obsah vialky (2 ml reagencie) odpovídá provedení 100 testů.

### Specifikace produktu

Obsah	100 testů, 2 ml
Použití	20 µl na test
Specifická	HLA-DR
Klon	MEM-12
Izotyp	Myši IgG1
Fluorochrom	PE
λ excitace	488 nm
Emission maximum	575 nm

## 4. Nutné, ale neposkytované materiály

Vhodné zkumavky pro barvení buněk (např. 12 × 75 mm)  
Komerční lyzační roztok  
Fosfátový pufr (PBS)  
Izotypová kontrola (myši IgG1 PE)

## 5. Nutná zařízení

Automatické pipety s jednorázovými špičkami  
Vortex  
Centrifuga  
Průtokový cytometr - excitace modrým laserem 488 nm a správné filtry

## 6. Skladování a manipulace

Vialku s reagencí uchovávejte v temnu při teplotě 2–8°C. Nezmrazujte. Nerozplňujte do alikvotů. Doba použitelnosti reagencie je vyznačena na etiketě vialky a na vnějším obalu.

## 7. Výstrahy, předběžná opatření a omezení

- Reagencie je určena pro In vitro diagnostiku v laboratořích mimo USA a Kanadu. Reagencie je ve shodě s evropskou směrnicí pro In vitro diagnostické zdravotnické prostředky 98/79/EC.
- Nepoužívejte reagencii po uplynutí doby použitelnosti.
- Chraňte obsah vialky před kontaminací.
- Reagencii nevystavujte dlouhodobému působení světla.
- Obsah vialky nesmí zmrznout.
- Nedodržení postupu měření může ovlivnit výsledky testu.
- Reagencie obsahuje azid sodný (NaN<sub>3</sub>), který je v čistém stavu vysoce toxický, avšak koncentrace, která je v této reagencii (15mM), není již považována za nebezpečnou. Při likvidaci reagencie obsahující azid splachujte velkým množstvím vody.
- Krevní vzorky jsou považovány za potenciálně infekční materiál, a proto s nimi musí být náležitě nakládáno. Vyvarujte se kontaktu vzorků s pokožkou, očima a sliznicemi.
- V případě krevního vzorku s abnormálně vysokým počtem leukocytů je třeba vzorek naředit pomocí PBS na hodnotu kolem 5 × 10<sup>6</sup> leukocytů na ml.
- Krevní vzorky od abnormálních pacientů

mohou vykazovat abnormální hodnoty procent pozitivních buněk.

- Data mohou být špatně interpretována, pokud jsou fluorescenční signály špatně kompenzované, případně pokud jsou regiony buněk špatně umístěné.
- Průtokový cytometr může poskytovat špatné hodnoty, pokud není dobře seřazen a udržován.
- Červené krvinky některých abnormálních pacientů mohou být rezistentní k lyzi pomocí lyzačních roztoků.
- Krevní vzorky by neměly být skladovány déle než 24 hodin od odběru.

## 8. Vzorek

Použijte vzorek periferní krve odebraný do sterilní zkumavky s antikoagulantem (Heparin nebo EDTA). Skladujte před obarvením za laboratorní teploty.

## 9. Postup

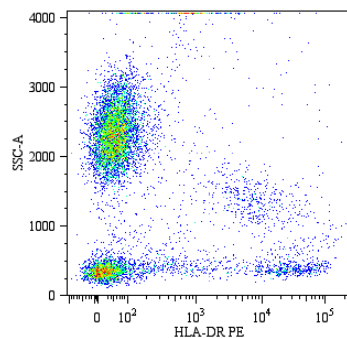
### Postup barvení

- Pipetujte 20 µl reagencie HLA-DR PE do zkumavky a stejné množství izotypové kontroly do kontrolní zkumavky.
- Přidejte 100 µl periferní krve do každé zkumavky a směs promíchejte pomocí vortexu.
- Inkubujte zkumavky 20 - 30 minut v temnu za laboratorní teploty.
- Provedte lyzi červenýchrvinek pomocí lyzačního roztoku. Je doporučeno používat komerční lyzační činidlo, které obsahuje formaldehyd fixující buňky. Postupujte podle návodu výrobce lyzačního činidla.
- Centrifugujte zkumavky 5 minut při 300 g.
- Odstraňte supernatant a resuspendujte sediment pomocí 3 - 4 ml PBS.
- Centrifugujte zkumavky 5 minut při 300 g.
- Odstaňte supernatant a resuspendujte sediment pomocí 0,3 - 0,5 ml PBS.
- Analyzujte vzorky ihned po obarvení pomocí průtokového cytometru. V případě, že byly vzorky fixovány formaldehydem, je možné vzorky uskladnit v temnu při 2–8°C a analyzovat do 24 hodin.

### Analýza v průtokovém cytometru

Vzorek obarvený pomocí reagencie HLA-DR PE analyzujte průtokovým cytometrem. Naměřená data zobrazte ve vhodném grafu, například side-scatter (SSC) versus intenzita fluorescence PE jak je znázorněno na obrázku 1. Populace oddělte vhodně nastavenými regiony. Region odpovídající negativním buňkám je doporučeno předem nastavit pomocí vhodné izotypové kontroly (myši IgG1 značená PE). Izotypová kontrola pomůže odhadnout úroveň nespecifických vazeb značené protilátky na buňky.

Obr. 1: Leukocyty obarvené pomocí reagencie HLA-DR PE



## 10. Vlastnosti analytické funkce

### Specifická

Monoklonální protilátka MEM-12 rozeznává epitop na lidské molekule HLA-DR, který závisí na asociaci alfa a beta řetězce. DR je izoforma lidské molekuly MHC II. typu, kterou exprimují buňky prezentující antigen, zejména B lymfocyty, monocyty, makrofágy, aktivované T lymfocyty a aktivovaní přirození zabíječi (NK).

### 11. Vlastnosti klinické funkce

#### Očekávané hodnoty

N/A

### 12. Odkazy

Franke A et al. (2007) Delayed recovery of human leukocyte antigen-DR expression after cardiac surgery with early non-lethal postoperative complications: only an epiphenomenon? *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* [Epub ahead of print]

Sundberg EJ et al. (2007) TCR recognition of peptide/MHC class II complexes and superantigens. *Semin Immunol.* 19: 262-71

Sheldon S and Poulton K (2006) HLA typing and its influence on organ transplantation. *Methods*

*Mol Biol.* 333: 157-174

Turesson C (2004) Endothelial expression of MHC class II molecules in autoimmune disease. *Curr Pharm Des.* 10: 129-143

Tiercy JM (2002) Molecular basis of HLA polymorphism: implications in clinical transplantation. *Transpl Immunol.* 9: 173-180

Zhu X et al. (1997) A recombinant single-chain human class II MHC molecule (HLA-DR1) as a covalently linked heterotrimer of alpha chain, beta chain, and antigenic peptide, with immunogenicity in vitro and reduced affinity for bacterial superantigens. *Eur J Immunol* 27: 1933-41

Horejsi V et al. (1986): Characterization of seven new monoclonal antibodies against human DR, DR + DP and DQ1 + DQ3 antigens. *Tissue Antigens.* 28: 288-97

## 13. Výrobce

EXBIO Praha, a.s.  
Nad Safinou II 341  
25250 Vestec  
Czech Republic

[info@exbio.cz](mailto:info@exbio.cz)  
[technical@exbio.cz](mailto:technical@exbio.cz)  
[orders@exbio.cz](mailto:orders@exbio.cz)  
[www.exbio.cz](http://www.exbio.cz)

## 14. Ochranné známky

N/A

## 15. Historie revizí

- Verze 1, ED7020\_IFU\_v1  
První vydání.
- Verze 2, ED7020\_IFU\_v2  
Sloučení tří jazykových mutací do jednoho dokumentu. Změna adresy: "Nad Safinou II 341".
- Verze 3, ED7020\_IFU\_v3  
V sekci výstrahy, předběžná opatření a omezení bylo změněno - „Určeno pouze pro profesionální použití.“ - odstraněno. „Reagencie je určena pro In vitro diagnostiku v laboratořích mimo USA a Kanadu. Souprava je ve shodě s evropskou směrnicí pro In vitro diagnostické zdravotnické prostředky 98/79/EC.“ - přidáno.
- Verze 4, ED7020\_IFU\_v4  
V sekci popis reagencie byl přidán text "stabilizační" a "roztok", byl odstraněn 0,2% (hmotn./obj.) hovězí sérový albumin (BSA) jako stabilizační činidlo.
- Verze 5, ED7020\_IFU\_v5  
Změna loga výrobce. Změna grafického designu a celkového rozložení návodu k použití. Přidáno omezení pro skladování: "Chránit před slunečním zářením".  
Změna PSČ výrobce z 25242 na 25250.

# exbio

## Monoklonální protilátka proti HLA-DR, konjugovaná s PE (HLA-DR PE)

100 testů | Kat. č. ED7020



### Návod k použití

Verze: ED7020\_IFU\_v5\_CS

Datum vydání: 07-10-2020

CS

### Symbole



Katalogové číslo



Kód dávky



Použit do data



Omezení teploty



Chránit před slunečním zářením



Diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*



Označení shody CE



Čtěte návod k použití



Výrobce

Produkt je určen pro In Vitro diagnostické použití. In vivo diagnostické nebo terapeutické aplikace jsou zakázány.

Výrobky nesmějí být použity k dalšímu prodeji nebo převodu třetím osobám ani jako samostatný výrobek, ani jako součást výroby jiného výrobku bez písemného souhlasu EXBIO Praha, a.s. EXBIO Praha, a.s. nenese odpovědnost za porušení patentu ani za žádné další porušení práv duševního vlastnictví, ke kterým může dojít při používání těchto produktů. Objednávky na všechny produkty jsou přijímány v souladu s pravidly a podmínkami dostupnými na [www.exbio.cz](http://www.exbio.cz). EXBIO, EXBIO Logo a všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti EXBIO Praha, a.s.