

# Monoklonální protilátka proti CD63, konjugovaná s FITC (CD63 FITC)

Kat. č. ED7031

## 1. Určený účel prostředku

Reagencie CD63 FITC je určena k identifikaci a počítání CD63 pozitivních buněk v lidské periferní krvi pomocí průtokové cytometrie. Tato reagencie je často používána pro vyšetření aktivity bazofilů po stimulaci alergemem.

## 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 protilátku proti lidskému antigenu CD63 (klon MEM-259), která byla purifikována a označena fluorescein izothiokyanátem (FITC). 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

Specifická	CD63
Fluorochrom	FITC
Klon	MEM-259
Izotyp	Myši IgG1
Obsah	100 testů, 2 ml
Použití	20 µl na test
λ. excitace	488 nm
Emission maximum	525 nm

## 4. Nutné, ale neposkytované materiály

Vhodné zkumavky pro barvení buněk

(např. 12 x 75 mm)

Komerční lyzační roztok

Fosfátový pufr (PBS)

## 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 reagiemi uchovávejte v temnu při teplotě 2-8 °C. Nezmrazujte. Nerozplhujte do alikvotů. Doba použitelnosti reagencie je vyznačena na štítku vialky.

## 7. Výstrahy, předběžná opatření

### a omezení

- 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.
- Nepoužívejte reagiemi po uplynutí doby použitelnosti.
- Chraňte obsah vialky před kontaminací.
- Reagenci nevystavujte dlouhodobému působení světla.
- Obsah vialky nesmí zmraznout.
- 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 reagiemi (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 nležitě 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 x

106 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 před barvením.

## 8. Vzorek

Použijte periferní krev ve sterilní odběrové zkumavce obsahující antikoagulant (Heparin nebo EDTA).

Krev v odběrových zkumavkách musí být skladována za laboratorní teploty na kývačce. Vzorky krve zpracujte nejdéle do 48 hodin po odběru.

## 9. Postup

### Postup značení

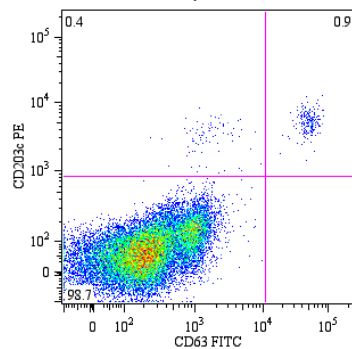
- Pipetujte 20 µl reagencie CD63 FITC do zkumavky.
- Přidejte 100 µl periferní krve a směs promíchejte pomocí vortexu.
- Inkubujte zkumavku 20-30 minut v temnu za laboratorní teploty.
- Proveďte lyzi červenýchrvinek pomocí lyzačního roztoku. Je doporučeno používat komerční lyzační činidlo, které obsahuje formaldehyd fixující buňky. Postupujte podle návodu výrobce lyzačního činidla.
- Centrifugujte zkumavku 5 minut při 300 g.
- Odstraňte supernatant a resuspendujte sediment pomocí 3-4 ml PBS.
- Centrifugujte zkumavku 5 minut při 300 g.
- Odstraňte supernatant a resuspendujte sediment pomocí 0,3-0,5 ml PBS.
- Analýzujte vzorek ihned po obarvení pomocí průtokového cytometru. V případě že byl vzorek fixovaný formaldehydem, je možné vzorek uskladnit v temnu při 2-8 °C a analyzovat do 24 hodin.

## Analýza v průtokovém cytometru

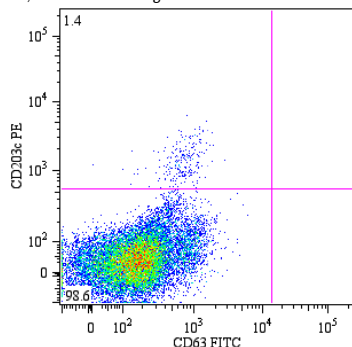
Obarvený vzorek analyzujte průtokovým cytometrem. Naměřená data zobrazte ve vhodném grafu a buněčné populace rozdělíte pomocí regionů tak, aby bylo možné spočítat procentuální zastoupení CD63 pozitivní populace.

Uvedená vzorová data představují analýzu krve pacienta s alergií na včelí jed. Testovací vzorek (obrázek 1) byl stimulován pomocí extraktu ze včelího jedu a interleukinem-3 a poté obarven protilátkami CD63 FITC a CD203c PE. Obrázek 2 představuje kontrolní vzorek, který nebyl stimulován alergemem.

Obr. 1: Vzorek krve pacienta s alergií na včelí jed, obarvený pomocí CD63 FITC a CD203c PE, po stimulaci extraktem včelího jedu a IL-3.



Obr. 2: Kontrolní vzorek krve pacienta s alergií na včelí jed, obarvený pomocí CD63 FITC a CD203c PE, bez stimulace alergemem.



## 10. Vlastnosti analytické funkce

### Specifická

Monoklonální protilátka MEM-259 reaguje s lidským CD63 antigenem (LAMP-3, lysosome associated membrane protein-3), 40-60 kDa glykoproteinem, který je přítomen na endozomech, lysozomech a sekrečních vácích mnoha typů buněk. Tento antigen se také objevuje v plazmatické membráně po buněčné aktivaci. Díky tomu se tento antigen používá jako aktivací marker bazofilů.

### Přesnost

N/A

### Linearita

N/A

### Opakovatelnost

N/A

### Reprodukovatelnost

N/A

## 11. Vlastnosti klinické funkce

### Očekávané hodnoty

N/A

## 12. Odkazy

Lin D, Kamsteeg EJ, Zhang Y, Jin Y, Sterling H, Yue P, Roos M, Duffield A, Spencer J, Caplan M, Wang WH: Expression of tetraspan protein CD63 activates protein tyrosine kinase (PTK) and enhances the PTK-induced inhibition of ROMK channels. J Biol Chem. 2008 Jan 22

Kwon MS, Shin SH, Yim SH, Lee KY, Kang HM, Kim TM, Chung YJ: CD63 as a biomarker for predicting the clinical outcomes in adenocarcinoma of lung. Lung Cancer. 2007 Jul;57(1):46-53.

Cerny J, Feng Y, Yu A, Miyake K, Borgonovo B, Klumperman J, Meldolesi J, McNeil PL, Kirchhausen T.: The small chemical vacuolin-1 inhibits Ca(2+)-dependent lysosomal exocytosis but not cell resealing. EMBO Rep. 2004 Sep;5(9):883-8. Erratum in: EMBO Rep. 2005 Sep;6(9):898.

Israels SJ, McMillan-Ward EM: CD63 modulates spreading and tyrosine phosphorylation of platelets on immobilized fibrinogen. Thromb Haemost. 2005 Feb;93(2):311-8.

Grützkau A, Smorodchenko A, Lippert U, Kirchhof L, Artuc M, Henz BM: LAMP-1 and LAMP-2, but not LAMP-3, are reliable markers for activation-induced secretion of human mast cells. Cytometry A. 2004 Sep;61(1):62-8.

Mantegazza AR, Barrio MM, Moutel S, Bover L, Weck M, Brossart P, Teillaud JL, Mordoh J: CD63 tetraspanin slows down cell migration and translocates to the endosomal-lysosomal-MIICs route after extracellular stimuli in human immature dendritic cells. Blood. 2004 Aug 15;104(4):1183-90.

Pfistershammer K, Majdic O, Stöckl J, Zlabinger G, Kirchberger S, Steinberger P, Knapp W: CD63 as an activation-linked T cell costimulatory element. J Immunol. 2004 Nov 15;173(10):6000-8.

## 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, ED7031\_IFU\_v1

První vydání.

- Verze 2, ED7031\_IFU\_v2

Změna adresy: "Nad Safinou II 341".

- Verze 3, ED7031\_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, ED7031\_IFU\_v4

V sekci výstrahy, předběžná opatření a omezení byl přidán stabilizátor, přidán roztok a odstraněn 0,2% (hmotn./obj.) hovězí sérový albumin (BSA) jako stabilizační činidlo.

- Verze 5, ED7031\_IFU\_v5

Změna loga výrobce a vzhledu Návodu k použití. Přidáno omezení pro skladování: "Chránit před slunečním zářením".

"Krev v odběrových zkumavkách musí být skladována za laboratorní teploty na kývačce. Vzorky krve zpracujte nejdéle do 48 hodin po

odběru." - přidáno

Změna PSC výrobce z 25242 na 25250.

# exbio

## Monoklonální protilátka proti CD63, konjugovaná s FITC (CD63 FITC)

100 testů | Kat. č. ED7031

IVD

CE










### Návod k použití

Verze: ED7031\_IFU\_v5\_CS

Datum vydání: 18-02-2020

CS

### Symbols

	Katalogové číslo
	Kód dávky
	Použit do data
	Omezení teploty
	Chránit před slunečním zářením
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	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.