

# Monoklonální protilátka proti CD45, konjugovaná s PerCP (CD45 PerCP)

Kat. č. ED7029

## 1. Určený účel prostředku

Reagencie CD45 PerCP je určena pro identifikaci a počítání CD45 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 myší monoklonální protilátka proti lidskému antigenu CD45 (klon MEM-28), která byla purifikována a označena Peridinin-chlorophyll-protein komplexem (PerCP). 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	CD45
Klon	MEM-28
Izotyp	Myší IgG1
Fluorochrom	PerCP
λ excitace	488 nm
Emisní maximum	670 nm

## 4. Nutné, ale neposkytované materiály

Vhodné zkumavky pro barvení buněk (např. 12 x 75 mm)  
Komerční lyzační roztok  
Fosfátový pufr (PBS)  
Izotypová kontrola (myší IgG1 PerCP)

## 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 reagentií uchovávejte v temnu při teplotě 2-8 °C. Nezmrazujte. Nerozpínejte 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. Souprava 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 reagentií (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 x 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 seřízen 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

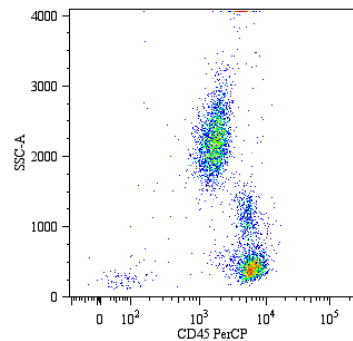
### Postup barvení

- Pipetujte 20 µl reagencie CD45 PerCP 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.
- Odstraňte supernatant a resuspendujte sediment pomocí 0,3-0,5 ml PBS.
- Analýzujte 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 CD45 PerCP analyzujte průtokovým cytometrem. Naměřená data zobrazte ve vhodném grafu, například side-scatter (SSC) versus intenzita fluorescence PerCP, jak je znázorněno na obrázku 1. Všechny leukocyty jsou CD45 pozitivní, naopak neleukocytární částice (debris, červené krvinky, krevní destičky, atd.) jsou CD45 negativní. Populace vhodně oddělte pomocí regionů.

Obr. 1: Leukocyty obarvené pomocí reagencie CD45 PerCP



## 10. Vlastnosti analytické funkce

### Specifická

Monoklonální protilátka MEM-28 reaguje se všemi izoformami molekuly CD45. Fosfotyrosinofosfatasa CD45 (Leucocyte Common Antigen) je jednořetězcový transmembránový protein o molekulové hmotnosti 180-220 kDa, exprimovaný ve velkém množství u všech buněk hematopoetického původu kromě erytrocytů a krevních destiček. Specifická monoklonální protilátka MEM-28 byla ověřena v rámci mezinárodního pracovního semináře o lidských leukocytárních diferenciálních antigenech (HLDA3 WS Code: NL 833a).

### 11. Vlastnosti klinické funkce

N/A

### 12. Odkazy

Guttinger M et al. (1992) CD45 phosphotyrosine phosphatase and p56lck protein tyrosine kinase: a functional complex crucial in T cell signal transduction. *Int Immunol*. 4: 1325-30.

Stover DR et al. (1991) Protein-tyrosine-phosphatase CD45 is phosphorylated transiently on tyrosine upon activation of Jurkat T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 7704-7707.

Taetle R et al. (1991) Regulation of CD45 expression in human leukemia cells. *Leukemia* 5: 309-314.

Nakano A et al. (1990) Expression of leukocyte common antigen (cd45) on various human leukemia/lymphoma cell lines. *Acta Pathol Jpn*. 40: 107-15.

Yamada A et al. (1990) Effect of activation of protein kinase C on CD45 isoform expression and CD45 protein tyrosine phosphatase activity in T cells. *Eur J Immunol*. 20: 1655-60.

Bazil V et al. (1989) Sialic acid-dependent epitopes of CD45 molecules of restricted cellular expression. *Immunogenetics* 29: 202-5.

Horejsi V et al. (1988) Monoclonal antibodies against human leucocyte antigens. II. Antibodies against CD45 (T200), CD3 (T3), CD43, CD10 (CALLA), transferrin receptor (T9), a novel broadly expressed 18-kDa antigen (MEM-43) and a novel antigen of restricted expression (MEM-74). *Folia Biol (Praha)*. 34: 23-34.

Leukocyte Typing IV., Knapp W. et al. (Eds.), Oxford University Press (1989).

Leukocyte Typing III., McMichael A. J. et al (Eds.), Oxford University Press (1987).

## 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, ED7029\_IFU\_v1  
První vydání.
- Verze 2, ED7029\_IFU\_v2  
Změna adresy: "Nad Safinou II 341".
- Verze 3, ED7029\_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, ED7029\_IFU\_v4  
V sekci výstrahy, předběžná opatření a omezení byl odstraněn 0,2% (hmotn./obj.) hovězí sérový albumin (BSA) jako stabilizační činidlo.
- Verze 5, ED7029\_IFU\_v5

Změna loga výrobce. Změna grafického designu a celkového rozložení návodu k použití.

Přidáno omezení pro skladování: "Chráňte před slunečním zářením".  
Změna PSC výrobce z 25242 na 25250.

# exbio

## Monoklonální protilátka proti CD45, konjugovaná s PerCP (CD45 PerCP)

100 testů | Kat. č. ED7029



### Návod k použití

Verze: ED7029\_IFU\_v5\_CS

Datum vydání: 27-02-2020

CS

### Symbols



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.