

Monoklonální protilátka proti CD14, konjugovaná s PE (CD14 PE)

Kat. č. ED7015

1. Určený účel prostředku

Reagencie CD14 PE je určená k identifikaci a počítání CD14 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 protilátku proti lidskému antigenu CD14 (klon MEM-15), 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	CD14
Klon	MEM-15
Izotyp	Myši IgG1
Fluorochrom	PE
λ excitace	488 nm
Emisní 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 reagentii uchovávejte v temnu při teplotě 2-8 °C. Nezmrazujte. Nerozpíňujte 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 zmznout.
- Nedodržení postupu měření může ovlivnit výsledky testu.
- Reagencie obsahuje azid sodný (NaN₃), který je v čistém stavu vysoce toxický, avšak koncentrace, která je v této reagentii (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 × 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 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

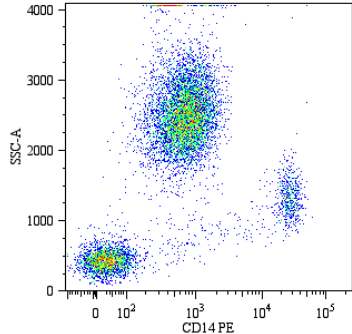
Postup barvení

- Pipetujte 20 µl reagencie CD14 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.
- Proveďte 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 CD14 PE analyzujte průtokovým cytometrem. Naměřená data zobrazte ve vhodném grafu, například side-scatter (SSC) versus intenzita fluorescence PE, jak je znázorněno na obrázku 1.

Obr. 1: Leukocyty obarvené pomocí reagencie CD14 PE



Populace buněk s nejvyšší intenzitou fluorescence (CD14+) představuje monocyty. 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.

10. Vlastnosti analytické funkce

Specifická

Monoklonální protilátka MEM-15 reaguje s molekulou CD14, membránovým glyko-proteinem o molekulové hmotnosti 53-55 kDa zakotveným pomocí glycosylfosfatidylinositolu, exprimovanou monocytu, makrofágy a slabě i granulocyty. Protilátka MEM-15 reaguje také s rozpustnou formou CD14, která se nalézá v séru a moči některých nefrotických pacientů. Specifická monoklonální protilátka MEM-15 byla ověřena v rámci mezinárodního pracovního semináře o lidských leukocytárních diferenciálních antigenech (*HLDA3 WS Code: M 252*).

11. Vlastnosti klinické funkce

Očekávané hodnoty

Výsledky počtu pozitivních buněk mohou kolísat mezi jednotlivými laboratořemi. Každá laborať by si měla ustanovit vlastní rozsah normálních hodnot.

12. Odkazy

Asai Y et al. (2007) Soluble CD14 Discriminates Slight Structural Differences between Lipid As That Lead to Distinct Host Cell Activation. *J Immunol.* 179: 7674-83

Lodrup Carlsen KC and Granum B (2007) Soluble CD14: role in atopic disease and recurrent infections, including otitis media. *Curr Allergy Asthma Rep.* 7: 436-43

Fernández-Real JM et al. (2003) CD14 monocyte receptor, involved in the inflammatory cascade, and insulin sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 88: 1780-4

Juan TS et al. (1995) Identification of a domain in soluble CD14 essential for lipopolysaccharide (LPS) signaling but not LPS binding. *J Biol Chem.* 270: 17237-42

Bazil V et al. (1986) Biochemical characterization of a soluble form of the 53-kDa monocyte surface antigen. *Eur J Immunol.* 16: 1583-9

Leukocyte Typing VI., Kishimoto T. et al. (Eds.), Garland Publishing Inc. (1997).

Leukocyte Typing V., Schlossman S. et al. (Eds.), Oxford University Press (1995).

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
technical@exbio.cz
orders@exbio.cz
www.exbio.cz

14. Ochranné známky

N/A

15. Historie revizí

- Verze 1, ED7015_IFU_v1
První vydání.
- Verze 2, ED7015_IFU_v2
Sloučení tří jazykových mutací do jednoho dokumentu. Změna adresy: "Nad Safinou II 341".
- Verze 3, ED7015_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, ED7015_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, ED7015_IFU_v5
Změna loga výrobce. Změna grafického designu a celkového rozložení návodu k použití. Přidáno omezení pro skladování: "Chránit před slunečním zářením". Změna PSC výrobce z 25242 na 25250.



Monoklonální protilátka proti CD14, konjugovaná s PE (CD14 PE)

100 testů | Kat. č. ED7015



Návod k použití

Verze: ED7015_IFU_v5_CS

Datum vydání: 29-07-2020

CS

Symbody



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. nenes 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. EXBIO, EXBIO Logo a všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti EXBIO Praha, a.s.