

Monoklonální protilátka proti CD19, konjugovaná s PE (CD19 PE)

Kat. č. ED7017

1. Určený účel prostředku

Reagencie CD19 PE je určena k identifikaci a počítání CD19 pozitivních lymfocytů v lidské periferní krvi pomocí průtokové cytometrie.

2. Princip testu

Tento test je založen na specifické vazbě monoklonální protilátky na antigen, který je exprimován 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 krvinčky odstraněny pomocí lyze a leukocyty jsou analyzovány průtokovým cytometrem.

3. Poskytované materiály

Reagencie obsahuje myši monoklonální protilátka proti lidskému antigenu CD19 (klon LT19), 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
Specifita	CD19
Klon	LT19
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 x 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. Nerozpínejte do alikvotů. Doba použitelnosti reagencie je vyznačena na etiketě vialky a na vnějším obalu.

7. Výstraha, 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 zmraznout.
- 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 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 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 seřízen a udržován.
- Červené krvinčky 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

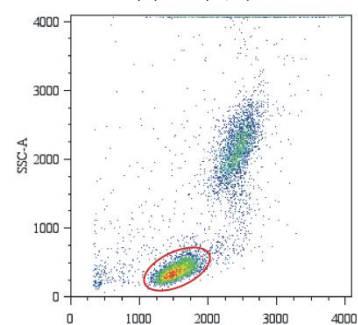
Postup barvení

- Pipetujte 20 µl reagencie CD19 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 červených krvinek 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.
- Analizujte 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

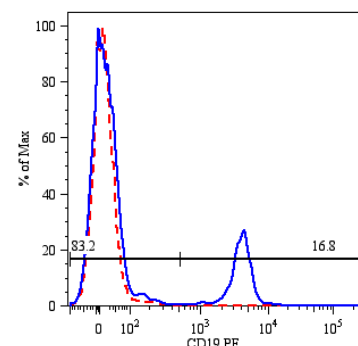
Vzorek obarvený pomocí reagencie CD19 PE analyzujte průtokovým cytometrem. Naměřená data zobrazte v grafu side-scatter (SSC) versus forward-scatter (FSC). Ohraničte populaci lymfocytů, jak je znázorněno na obrázku 1.

Obr. 1: Ohraničení populace lymfocytů



Ohraničené lymfocyty se vynesou do histogramu, kde osa x představuje intenzitu fluorescence PE (viz Obr. 2). Z histogramu se odečte počet CD19 pozitivních lymfocytů. 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. 2: Lymfocyty obarvené pomocí reagencie CD19 PE



10. Vlastnosti analytické funkce

Specifita

Monoklonální protilátka LT19 reaguje s antigenem CD19 (B4), 95 kDa transmembránovým glykoproteinem typu I

imunoglobulinové rodiny, který je exprimován B lymfocyty a folikulárními dendritickými buňkami. Plasmatické buňky CD19 již neexprimují.

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. V naší laboratoři byla reagencie CD19 PE testována na 40 krevních vzorcích zdravých jedinců. Získané hodnoty jsou uvedeny v následující tabulce.

Parametr	Průměr (%)	SD	CV (%)
CD19 ⁺ lymfocyty	12,6	5,0	39,7

12. Odkazy

Shi X et al. (2007) CD19 hyperexpression augments Sle1-induced humoral autoimmunity but not clinical nephritis. *Arthritis Rheum.* 56: 3057-3069

van Zelm MC et al. (2006) An antibody-deficiency syndrome due to mutations in the CD19 gene. *N Engl J Med.* 354: 1901-1912

Lin CW et al. (2005) CD94 1A transcripts characterize lymphoblastic lymphoma/leukemia of immature natural killer cell origin with distinct clinical features. *Blood.* 106: 3567-74

Elias F et al. (2003) Strong cytosine-guanosine-independent immunostimulation in humans and other primates by synthetic oligodeoxynucleotides with PyNTTTTGT motifs. *J Immunol.* 171: 3697-704

Inabe K and Kurosaki T (2002) Tyrosine phosphorylation of B-cell adaptor for phosphoinositide 3-kinase is required for Akt activation in response to CD19 engagement. *Blood* 99: 584-589

Fujimoto M et al. (1999) CD19 amplifies B lymphocyte signal transduction by regulating Src-Family protein tyrosine kinase activation. *J Immunol.* 162: 7088-7094

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, ED7017_IFU_v1
První vydání.
- Verze 2, ED7017_IFU_v2
Sloučení tří jazykových mutací do jednoho dokumentu.
- Verze 3, ED7017_IFU_v3
Změna adresy: "Nad Safinou II 341".
- Verze 4, ED7017_IFU_v4
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 5, ED7017_IFU_v5
V sekci popis reagencie byl přidán text "stabilizační" a "roztok", byl odstraněn 0,2% (hmotn./obj.) hovězí sérový albumin (BSA) jako stabilizační činidlo."
- Verze 6, ED7017_IFU_v6
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 CD19, konjugovaná s PE (CD19 PE)

100 testů | Kat. č. ED7017



Návod k použití

Verze: ED7017_IFU_v6_CS

Datum vydání: 30-07-2020

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