



SZABO SCANDIC

Part of Europa Biosite

Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 

Producto: PE Anti-humano CD45

Cat. Ref: 45PEI-100T

Reactivo Suministrado: 100 test (20µl / test)

Composición: Anticuerpo de ratón anti-humano CD45. El conjugado se presenta en solución acuosa con una proteína estabilizante y un 0,09% de azida sódica.

Clon: D3/9

Isotipo: IgG1

Fluorocromo: R-Ficoeritrina (Europa Bioproducts, Ely, Cambridge)



Reactividad: La molécula de CD45 (Leukocyte Common Antigen, LCA) se expresa fuertemente en todas las células hematopoyéticas, excepto en eritrocitos maduros y sus progenitores. Así la expresión presenta su mayor densidad en linfocitos, donde aproximadamente el 10% de la superficie celular es CD45, mientras que la expresión es todavía abundante pero menor en otros leucocitos. No se encuentra, en otros tejidos diferenciados y se usa como marcador con el cual identificar tumores hematopoyéticos indiferenciados.

Especificidad: CD45 es una glicoproteína, también conocida con antígeno común de leucocitos (LCA) y es la molécula de mayor peso molecular de la superficie celular de leucocitos. Es proteína tirosina fosfatasa integral de membrana (Charbonneau et al., 1988; 29,30: Tonks et al., 1988, 1990). Es requerida para la activación de células T a través de el receptor de antígeno.

Almacenamiento: Almacenar entre 2 -8 °C en oscuridad. No usar después de la fecha de caducidad impresa en el vial. Si se observa un marcaje inesperado que no puede ser explicado por una variación de los protocolos o procedimientos en el laboratorio y se sospecha un problema con el funcionamiento del producto, contacte con nuestro Servicio Técnico (tech@immunostep.com).

Aplicación: El producto está recomendado para uso en Citometría de Flujo. Este reactivo está indicado para el marcaje de tejidos humanos con inmunofluorescencia directa en un análisis de citometría de flujo, usando 20 µl/10⁶ células.

Precauciones:

1. Este producto contiene azida sódica (NaN₃), un químico altamente tóxico en formato puro. A las concentraciones existentes en el vial, el producto no está clasificado como dañino, la azida sódica puede reaccionar con las tuberías de cobre y formar acumulos sumamente explosivos. En este sentido, limpie con volúmenes grandes de agua para prevenir el acumulo de metales de azida en las instalaciones de cañerías.
2. Como con cualquier producto derivado de fuentes biológicas, se debe usar los procedimientos adecuados para su manipulación.

Protocolo:

1. Transferir 100 µL de sangre (10⁶ células) anticoagulada (EDTA) a un tubo de poliestireno de 12 x 75 mm.
2. Añadir 20µl del CD45 y mezclar vigorosamente con la ayuda de un vortex.
3. Incubar en oscuridad a temperatura ambiente, a 4°C durante 30 minutos y a 20-25°C durante 15 minutos.
4. Añadir la cantidad recomendada por el fabricante de la Solución Lisante a cada muestra y mezclar vigorosamente con un vortex.

5. Centrifugar a 1000 x g durante 5 minutos. Aspirar el sobrenadante quedando aproximadamente 50 μ L del líquido.
6. Añadir 2 ml 0.01 mol/L PBS (mejor si contiene 2% BSA) y resuspender las células usando un vortex.
7. Centrifugar a 1000 x g durante 5 minutos. Aspirar el sobrenadante quedando aproximadamente 50 μ L del líquido.
8. Resuspender el pellet en un fluido apropiado para el citómetro de flujo por ejemplo. 0.3 ml PBS. El PBS debe contener 1% paraformaldehido (fijador) si las muestras no son analizadas en el día.
9. Análisis en un Citómetro de flujo o almacenar a 2-8 AC en oscuridad hasta analizar. Las muestras pueden ser analizadas hasta 24 horas después de la lisis.

Sangre Periférica Normal (SPN) de un donante humano

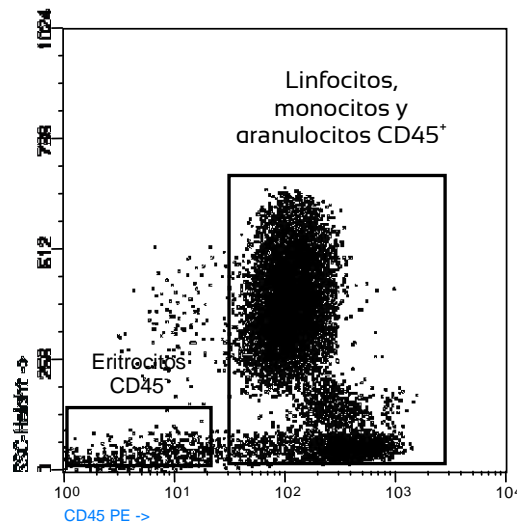


Fig. 1.- (SPNI) FSC vs CD45

Las células fueron analizadas en un citómetro FCSCalibur (Becton Dickinson, San Jose, CA), usando el software de adquisición Cell Quest y el software de análisis PAINT-A-GATE. PRO.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO.

(Tratamiento de datos estadísticos obtenidos mediante SPSS 14.0 versión español)

CD45 PE

Isotipo	IgG1
Clon	D3/9

Especificidad

Las muestras de sangre que se obtuvieron de donantes Caucásicos sanos fueron tratadas con los anticuerpos monoclonales de Immunostep CD45 PE (Clon D3/9). Se seleccionaron para el análisis las células contenidas en las regiones de linfocitos, monocitos y granulocitos. Las muestras de sangre fueron procesadas por un método leucocitario, con una inmunofluorescencia directa.

Resúmenes de casos

		% de linfocitos	% de monocitos	% de granulocitos
1		99,97	100	100
2		99,57	99,79	99,99
3		98,42	100	99,71
4		99,23	100	99,62
5		98,77	100	99,95
6		95,03	99,82	99,80
7		99,10	100	99,95
8		97,83	99,40	99,91
9		98,7	100	99,80
10		99,06	99,85	99,75
Total	N	10	10	10

Estadísticos

		% de linfocitos	% de monocitos	% de granulocitos
N	Válidos	10	10	10
	Perdidos	0	0	0
Media		98,5680	99,8860	99,8480
Mediana		98,9150	100,0000	99,8550
Desv. típ.		1,37740	,19121	,13045
Varianza		1,897	,037	,017
Mínimo		95,03	99,40	99,62
Máximo		99,97	100,00	100,00

Sensibilidad

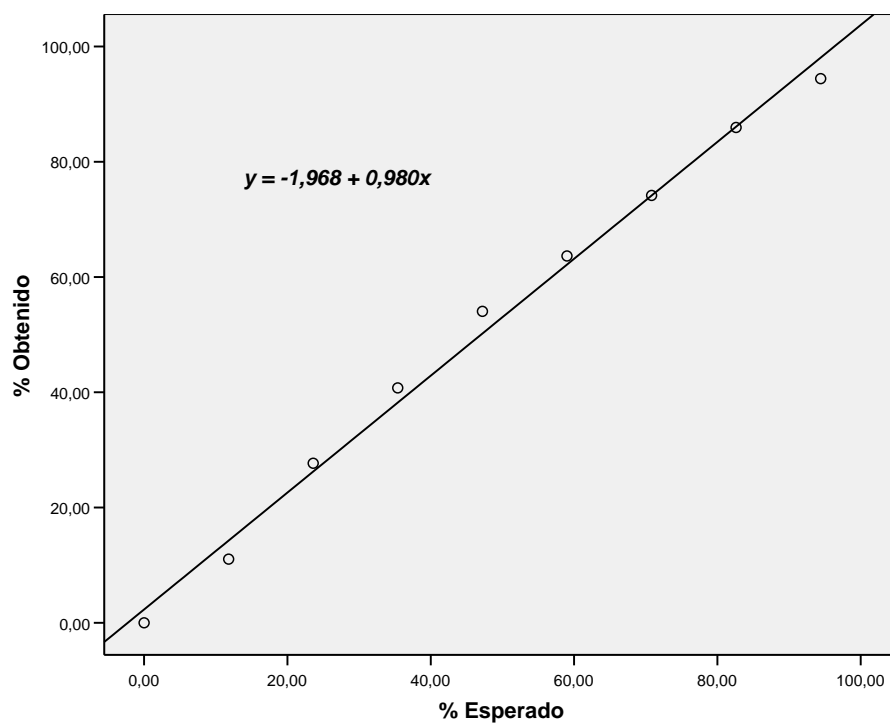
La sensibilidad de los anticuerpos monoclonales Immunostep CD45 PE (Clon D3/9) se determina por medio del marcaje de una muestra sanguínea de un donante sano. Para determinar la consistencia del anticuerpo monoclonal conjugado se usan concentraciones crecientes de cada anticuerpo (deliberadas). Proporciona una indicación de su fiabilidad durante un uso normal.

Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación	Estadísticos de cambio				
					Cambio en R cuadrado	Cambio en F	gll	gl2	Sig. del cambio en F
1	,997(a)	,994	,993	2,74825	,994	1099,622	1	7	,000

a Variables predictoras: (Constante), % Obtenido

b Variable dependiente: % Obtenido



De este modo se puede decir que la variable dependiente (el % de células CD45+ obtenido) puede predecirse a partir de los valores de la variable independiente (el % de células CD45+ esperado), con una gran precisión.

Coefficientes(a)

Modelo		Coefficients no estandarizados		Coefficients estandarizados	t	Sig.
		B	Error típ.			
1	(Constante)	-1,968	1,743		-1,129	,296
	% Obtenido	,980	,030	,997	33,161	,000

a Variable dependiente: % Esperado

Reproducibilidad.

La reproducibilidad del anticuerpo monoclonal conjugado de Immunistep CD45 PE (Clon D3/9), se determinó utilizando 10 muestras por cada anticuerpo en tres rangos de valores para CD45+, alto, medio y bajo. Así, un total de 30 muestras fueron asimiladas con el CD45. De esta manera, se demostró la reproducibilidad a través de todo el rango de valores.

Los 10 valores de cada rango fueron marcados, procesados y analizados por separado. Se seleccionaron linfocitos para el análisis del porcentaje total de células para cada uno de los tres rangos.

Para la realización de este estudio, se obtuvo sangre anticoagulada de donantes normales que expresaban niveles altos de linfocitos. Los rangos medios y bajos se obtuvieron mezclando linfocitos conocidos con ratios apropiados, mientras se mantenía la concentración total de células para los tres rangos.

Resúmenes de casos

	% de linfocitos alto	% de linfocitos medio	% de linfocitos bajo
N	10	10	10
Media	93,7650	87,6350	83,7820
Mediana	94,2850	87,4250	83,0500
Mínimo	88,30	86,44	82,00
Máximo	95,56	89,30	85,90
Desv. típ.	2,04913	,78801	1,51770
Varianza	4,199	,621	2,303

Referencias:

1. Barclay AN and McCall MN. CD45; from alloantigen to mapping of restricted epitopes using recombinant soluble CD45 isoforms. Biochem. Soc. Trans. 1992 20:161 PubMed.
2. Trowbridge IS and Thomas ML. CD45: an emerging role as a protein tyrosine phosphatase required for lymphocyte activation and development. Annu. Rev. Immunol. 1993 12:85 PubMed.