

# Anti- Human CD45 (HI30)

Fluorochrom	Referenz	Test
APC	45A2-100T	100 test
PerCP	45PP2-100T	100 test
OC515	45OC2-100T	100 test



## ZUSAMMENSETZUNG

In einer Wasserlösung, die stabilisierende Proteine und 0,09 % Natrium-Azid (NaN<sub>3</sub>) enthält, fluorochromkonjugierter monoklonaler Maus-Anti-Mensch CD45 Antikörper.

## VORGESCHLAGENER VERWENDUNGSZWECK.

Der Clone CD45 HI30 von Immunostep ist ein monoklonaler Antikörper, der bei *in-vitro* Untersuchungen zur Identifizierung und Nummerierung menschlicher Proben eingesetzt werden kann, die CD45 mittels Durchflusszytometrie bestimmen.

## ANGEMESSENE LAGER- UND HANDHABUNGSBEDINGUNGEN.

Im Dunkeln und gekühlt bei 2 bis 8 °C lagern. Nicht einfrieren. Der Antikörper ist bis zu dem auf dem Etikett der Durchstechflasche angegebenen Datum stabil, wenn er zwischen 2-8 C gelagert wird. Nach diesem Datum sollte er nicht mehr verwendet werden.

Nachdem die Durchstechflasche einmal geöffnet ist, verbleibt das Produkt für einen Zeitraum von 90 Tagen stabil.

## OFFENSICHTLICHE ANZEICHEN EINER QUALITÄTSMINDERUNG.

Die Reagenzien dürfen nicht benutzt werden, wenn offensichtliche Anzeichen einer Qualitätsminderung vorliegen. Für weitere Informationen setzen Sie sich bitte unter [tech@immunostep.com](mailto:tech@immunostep.com) mit unserem technischen Kundenservice in Verbindung.

Das normale Erscheinungsbild ist das einer halbtransparenten und geruchlosen Flüssigkeit. Diese darf keine Präzipitate noch Trübheit aufweisen. Sie darf keinen Geruch haben.

## RATSCHLÄGE UND HINWEISE.

- a) Die Reagenzien enthalten Natrium-Azide. Unter sauren Bedingungen werden diese zu Stickstoffwasserstoffsäure, eine extrem toxische Verbindung. Azidverbindungen müssen unter laufendem Wasser aufgelöst werden, bevor sie entsorgt werden. Diese Empfehlungen werden gemacht, um Ablagerungen in den Abflussrohren zu vermeiden, in denen explosive Bedingungen entstehen könnten. Das Sicherheitsdatenblatt (FDS) steht Ihnen auf unserer Website zur Verfügung [www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)

- b) Es gilt eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien zu vermeiden.
- c) Die Reagenzien dürfen nicht dem Licht ausgesetzt werden. Benutzen Sie während der Handhabung, der Zellinkubation und vor der Untersuchung stets schwaches Dämmerlicht.
- d) Nicht mit dem Mund pipettieren.
- e) Bei einem Kontakt mit der Haut diese mit reichlich Wasser abwaschen.
- f) Die Proben sind auf die gleiche Weise zu behandeln, wie solche, die Infektionen übertragen könnten. Die geeigneten Mittel und Methoden zu ihrer Handhabung müssen dem Benutzer dabei zur Verfügung stehen.
- g) Das Produkt nicht nach Ablauf des auf der Durchstechflasche aufgeführten Verfallsdatums benutzen.
- h) Abweichungen der empfohlenen Verfahren könnten die Ergebnisse der Analyse ungünstig machen.
- i) FÜR *IN-VITRO* UNTERSUCHUNGEN.
- j) Nur für berufliche Zwecke.
- k) Bevor die Proben erworben werden, ist zu überprüfen, dass der Durchflusszytometer kalibriert und ausgeglichen ist.

## PROBEENTNAHME.

Die Entnahme venöser Blutproben muss in Blutabnahmeröhrchen vorgenommen werden, wobei das geeignete Blutgerinnungsmittel verwendet wird (EDTA oder Heparin)<sup>12</sup>. Für optimale Ergebnisse muss die Probe innerhalb von 6 Stunden nach Blutentnahme verarbeitet werden. Die Proben, die nicht innerhalb der nächsten 48 Stunden nach Blutentnahme verarbeitet werden können, sind auszuschließen und zu verwerfen.

## NICHT GELIEFERTE ABER BENÖTIGTE MATERIALIEN.

- Isotypische Kontrollen:

Fluorochrom	Isotypische Kontrolle	Referenz Immunostep
OC515	Mouse IgG1	ICIGGIOC-100UG
PerCP		ICIGGIPP-100UG
APC		ICIGGIA-50UG

- Zentrifuge
- Reagenzgläser 12 x 75 mm, die für Durchflusszytometrie üblich sind
- Mikropipetten, die fähig sind, ein Volumen zwischen 5 µl und 2 ml zu transferieren
- Blutabnahmeröhrchen mit Blutgerinnungsmittel
- Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) mit 0,09% Natrium-Azid. Es wird empfohlen 0,5% BSA hinzuzufügen
- Vakuumsystem
- Lysislösung
- Mit fluorochromadäquaten Lasern und Filtern ausgestatteter Durchflusszytometer
- Vortex-Mischer

## PROBENAUFBEREITUNG

1. Das auf der Durchstechflasche des Antikörpers empfohlene Volumen in das Reagenzglas für Zytometrie 12x75 mm fügen. Es wird empfohlen ein Zusatzreagenzglas mit der geeigneten isotypischen Kontrolle bereit zu halten (*siehe die erforderlichen aber nicht gelieferten Materialien*).
2. 100 µL Probe hinzugeben (bis zu 10<sup>6</sup> Zellen) und angemessen mit dem Vortex-Schüttler mischen.
3. 15 Minuten lang bei Raumtemperatur (20-15 °C) im Dunkeln inkubieren oder aber 30 Minuten lang bei 4 °C.
4. 2 ml der Lysislösung hinzufügen, dann mit dem Vortex-Schüttler mischen und im Dunkeln 10 Minuten lang inkubieren, oder aber solange, bis die Probe lysiert ist.
5. Bei 540xg 5 Minuten lang zentrifugieren und die überstehende Lösung vorsichtig absaugen, ohne dabei das Zellpellet zu berühren. Etwa 50 µl der Flüssigkeit nicht absaugen.
6. Pellet resuspendieren.
7. 2 ml PBS hinzufügen (*siehe erforderliche aber nicht geleiferte Materialien*)
8. Bei 540xg 5 Minuten lang zentrifugieren und die überstehende Lösung vorsichtig absaugen, ohne dabei das Zellpellet zu berühren. Etwa 50 µl der Flüssigkeit nicht absaugen.
9. Pellet in 0.3 ml PBS resuspendieren.

In einem Durchflusszytometer gewinnen oder bis zur Analyse bei 2-8 °C im Dunkeln lagern. Die Proben müssen innerhalb der nächsten 3 Stunden nach der Lyse gewonnen werden.

## GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Eine Inkubation des Antikörpers mit den Zellen ohne die empfohlenen Verfahren einzuhalten könnte zu einer Verringerung oder einem Verlust der antigenen Determinanten der Zelloberfläche führen.
2. Die von normalen Individuen erhaltenen Werte können zwischen verschiedenen Laboren abweichend sein und daher wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Normalbereiche festlegt.
3. Die anomalen Zellen oder Zelllinien können eine größere antigene Dichte aufweisen als die normalen Zellen. Dies könnte in manchen Fällen eine größere Menge an monoklonalem Antikörper erfordern, als die, die in den Verfahren zur Aufbereitung der Proben angegeben ist.
4. Bei kompletten Blutproben können die in pathologischen Proben gefundenen Erythrozyten genau wie die kernhaltigen Zellen der roten Serie (sowohl bei normalen, als auch bei pathologischen Proben) lysisresistent sein. Es könnte bei der Lysis von Erythrozyten längere Zeiten benötigen, um die Aufnahme von nicht lysierten Zellen in den abgegrenzten Bereich der Leukozyten zu verhindern.

5. Die Blutproben dürfen nicht übermäßig lange eingefroren werden (nicht mehr als 24 Stunden), da die Anzahl der lebensfähigen Zellen mit der Zeit zurück geht und sogar die Analyse beeinträchtigen könnte. Um bessere Ergebnisse zu erzielen, sollten sie kurz vor der Inkubation mit dem monoklonalen Antikörper bei Raumtemperatur gehalten werden.
6. Die genauesten mit dem Verfahren der Durchflusszytometrie erzielten Ergebnisse hängen von der richtigen Ausrichtung und Einstellung der Laser ab, sowie von der Festlegung der richtigen Bereiche.

## GARANTIE

Die Produkte von Immunostep verfügen im Moment der Übergabe an den Kunden über eine Garantie in Bezug auf die auf dem Produktetikett angegebene Menge und den Inhalt. Immunostep verzichtet auf jegliche sonstige Garantie. Die Haftung für Immunostep begrenzt sich auf den Ersatz der Produkte oder die Rückerstattung des Kaufpreises.

## LITERATUR

1. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture- approved standard; Fifth edition (2003). Wayne PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; Document H3-A5.
2. Standard Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens", publicado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS)

## HERGESTELLT VON



### Immunostep S.L

Avda. Universidad de Coimbra, s/n  
Cancer Research Center (CIC)  
Campus Miguel de Unamuno  
37007 Salamanca (Spain)  
Tel. (+34) 923 294 827  
[www.immunostep.com](http://www.immunostep.com)