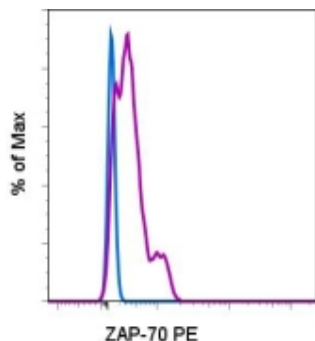


ZAP 70 (2F3.2) PE

Catalog Number(s): 9012-9945-025 (25 tests), 9012-9945-120 (120 tests)



Profili di fluorescenza di normali linfociti del sangue periferico umano non colorati (istogramma blu) o colorati a livello intracellulare con ZAP-70 coniugati con ficoeritrina (istogramma viola).

Informazioni sul prodotto

Indice: ZAP 70 (2F3.2) PE
Catalog Number(s): 9012-9945-025 (25 tests), 9012-9945-120 (120 tests)
Clone: 2F3.2
Concentrazione: 5 µl (0,125 µg)/test (un test viene definito come la quantità in grado di colorare 1x10e6 cellule in 100 µl)
Ospite/isotipo: IgG2a di topo, kappa
Formulazione: Tampone acquoso, 0,09% di sodio azide; può contenere proteina carrier/stabilizzante.



Storage Conditions: Conservare a 2-8 °C.
Non congelare.



Materiale fotosensibile.



Attenzione: contiene azide



Manufacturer: eBioscience, Inc., 10255 Science Center Drive, San Diego, CA 92121, USA



Authorized Representative: Bender MedSystems GmbH, an eBioscience Company
Campus Vienna Biocenter 2 A-1030 Vienna
Austria

Uso previsto

L'anticorpo monoclonale 2F3.2 coniugato con fluorocromo reagisce con l'antigene ZAP-70 umano. Il ZAP-70 può essere rilevato in campioni biologici umani mediante tecniche immunologiche.

Principi del test

La citometria a flusso è uno strumento utile per la misurazione simultanea delle diverse proprietà fisiche di singole particelle (come ad es., le cellule). Le cellule attraversano un raggio laser allineate una dietro l'altra. Per ogni cellula che attraversa il raggio laser il citometro registra il modo in cui la cellula o la particella disperdono la luce laser incidente ed emettono fluorescenza. Mediante questo protocollo di analisi con citometria a flusso è

possibile eseguire l'analisi simultanea delle molecole di superficie a livello della singola cellula.

Descrizione

L'anticorpo monoclonale 2F3.2 reagisce con la proteina 70 associata alla catena zeta umana (ZAP-70), una tirosin-chinasi citoplasmatica espressa nei linfociti T, i linfociti natural killer, oltre che nei linfociti B in maturazione e in alcuni sottoinsiemi di linfociti B maturi. Durante l'attivazione dei linfociti T, il ZAP-70 si lega al recettore dei linfociti T (TCR) ed esegue la fosforilazione delle molecole segnalatrici, come LAT e SLP-76. Inoltre, il suo ruolo nella segnalazione con il complesso TCR, il ZAP-70 è coinvolto nello sviluppo dei timociti.

Il ZAP-70 è anche un biomarcatore surrogato per la determinazione della prognosi della leucemia linfocitica

cronica (LLC). L'espressione di questa chinasi è usata per indicare lo stato delle mutazioni somatiche del gene della catena pesante delle variabili di immunoglobulina (IgVH). Studi genomici hanno rivelato che l'espressione del gene ZAP-70 è correlata a un gene IgVH immutato.

Istruzioni per il prelievo e la conservazione dei campioni

Prelevare un campione di sangue venoso mediante venipuntura in una provetta sterile per la raccolta del sangue, utilizzando un anticoagulante appropriato (si consiglia di utilizzare EDTA). Conservare i campioni a temperatura ambiente (18-25 °C). Prima dell'uso, miscelare i campioni agitando delicatamente.

Materiali necessari ma non forniti

- Provette da 12 x 75 mm
- Tamponi (si consiglia eBioscience Flow Cytometry Staining Buffer, N. cat. 00-4222)
- Tampone di lisi (si consiglia eBioscience 1X RBC Lysis Buffer, N. cat. 00-4333 o eBioscience 1-step Fix/Lyse Solution (10X), N. cat. 00-5333)
- Per la colorazione intracellulare utilizzare IC Fixation Buffer e Permeabilization Buffer, N. cat. 88-8823 (colorazione per le citochine intracellulari o per le proteine citoplasmatiche) o Foxp3 Buffer Set, N. cat. 00-5523 (colorazione delle proteine nucleari). Fare riferimento alla sezione Best Protocols del sito web di eBioscience per i protocolli "Staining Intracellular Antigens for Flow Cytometry".
- Colorazione di vitalità (si consiglia 7-AAD Viability Staining Solution, N. cat. 00-6993 o Propidium Iodide Staining Solution, N. cat. 00-6990)
- Pipette automatiche
- Centrifuga
- Miscelatore Vortex
- Secchio con ghiaccio o frigorifero
- Citometro a flusso

Protocollo del test

NOTA: per la colorazione intracellulare, fare riferimento alla sezione Best Protocols del sito web di eBioscience per i protocolli "Staining Intracellular Antigens for Flow Cytometry".

1. Erogare 100 µl del campione di analisi nelle provette.
2. Aggiungere 5 µl dell'anticorpo appropriato in ciascuna provetta.
3. Incubare per 30-60 minuti a 2-8 °C. In alternativa, i campioni possono essere incubati al buio a temperatura ambiente per 15-30 minuti.
4. Aggiungere 2 ml di 1X RBC Lysis Buffer (a temperatura ambiente) ad ogni provetta. Miscelare delicatamente.

(In alternativa, è possibile incubare i campioni con 2 ml di 1-step Fix/Lyse Solution).

5. Incubare i campioni al buio e a temperatura ambiente per 10 minuti. Con l'RBC Lysis Buffer non superare 15 minuti di incubazione.
6. Centrifugare i campioni a 300-400 x g per 5 minuti a temperatura ambiente, decantare/aspirare il surnatante e lavare 1 volta con 2 ml di Flow Cytometry Staining Buffer.
7. Centrifugare i campioni a 300-400 x g per 5 minuti a temperatura ambiente, decantare/aspirare il surnatante.
8. Risospendere il pellet di cellule colorate in 1 ml di Flow Cytometry Staining Buffer e analizzare i campioni con un citometro a flusso.

Limiti

1. Per una performance ottimale degli anticorpi coniugati con il fluorocromo, conservare le fiale al buio a 2-8 °C. Non congelarle.
2. Centrifugare la fiala con gli anticorpi per recuperare il massimo volume possibile.
3. Tranne quando riportato nel protocollo, tutte le colorazioni devono essere eseguite su ghiaccio oppure a 2-8 °C con una minima esposizione alla luce.

Caratteristiche della performance

La costanza della performance dei reagenti di alta qualità viene assicurata mediante l'analisi di ciascun lotto di anticorpi monoclonali per eseguire il confronto tra la loro conformità e le caratteristiche di un reagente standard. Quando ritenuto idoneo, vengono inclusi i dati rappresentativi della citometria a flusso.

Segni di deterioramento

Per qualsiasi domanda o dubbio riguardanti la performance o la qualità dei prodotti ricevuti, contattare l'assistenza tecnica di eBioscience (vedere di seguito).

Bibliografia

Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture (H3-A6), 3rd Edition published by the National Committee for Clinical Laboratory Standards.

Palacios EH, Weiss A. Distinct roles for Syk and ZAP-70 during early thymocyte development. *J Exp Med.* 2007 Jul 9;204(7):1703-15.

Nota legale

This product is for in vitro diagnostic use only. It is not to be used for any other commercial purpose. Use of this product to produce products for sale or for research, therapeutic or drug discovery purposes is prohibited. In order to obtain a license to use this product for any purpose other than in vitro diagnostic use, contact The Regents of the University of California.