

货号: IM1420

1/5



CD34-PE 检测试剂盒(流式细胞法)说明书

| | 规格 |
|------|---|
| 特异性 | CD34 |
| 克隆 | Immu133 |
| 杂交瘤 | X63 × balb/c |
| 免疫原 | 来自 KG1a 和 TF1 细胞系的细胞 |
| 同型对照 | IgG1 |
| 种属 | 小鼠 |
| 纯化 | 亲和层析 |
| 荧光染料 | R-藻红蛋白 (PE) |
| 摩尔比 | PE / Ig: 0.5 - 1.5 |
| λ 激发 | 488 nm |
| 发射峰 | 575 nm |
| 缓冲液 | PBS pH 7.2 plus 2 mg / mL BSA 和 0.1% NaN ₃ |

REF IM1420 100 测试-液体-20 μL/测试

仅供研究使用。不用于诊断程序。

【产品名称】

通用名称: CD34-PE 检测试剂盒(流式细胞法)

英文名称: CD34-PE

【试剂】

浓度: 请登录 www.beckmancoulter.com 查看批次特定的检验报告。

【特异性】

CD34 糖蛋白是一种跨膜单链分子。其分子量约为 110 kDa。胞外结构域有大量 N-和 O-糖基化位点^(1,2,3,4), 质外序列显示有两个活化蛋白激酶 C 磷酸化位点和一个酪氨酸磷酸化位点⁽³⁾。该抗原是已知最早的人造血祖细胞标记物^(5,6)。

根据对溶血性巴斯德氏菌的糖蛋白酶、木瓜凝乳蛋白酶和神经氨酸苷酶法分析产物的差异敏感性, CD34 表位分为三类。Immu133 单克隆抗体可特异性识别 I 类表位, 此类表位对神经氨酸苷酶和糖蛋白酶敏感, 可在正常样本上定期表达。

CD34 分子几乎可在所有造血前体细胞⁽⁷⁾上表达, 包括多能干细胞⁽⁸⁾。CD34 分子是人骨髓中集落形成细胞前体的最早标记物^(5,6)。CD34 糖蛋白的表达并不局限于造血祖细胞⁽⁹⁾, 在毛细血管内皮细胞^(9,10,11)和骨髓基质细胞及其前体⁽¹²⁾上也能检测到。Immu133 单克隆抗体于 1993 年在美国波士顿举办的第 5 届人类白细胞分化抗原国际研讨会上归至 CD34 分化群⁽¹³⁾。

【应用】

流式细胞术

【警告和注意事项】

1. 本试剂含 0.1%叠氮钠。叠氮钠在酸性条件下会生成剧毒化合物-叠氮酸。丢弃时，应使用流动水冲洗叠氮化物。建议采取以上预防措施以免在金属管道中沉积（可能引起爆炸）。如果接触到皮肤或眼睛，请用水长时间清洗。
2. 与本试剂接触的标本、样本和所有材料均应视为具有潜在传染性，应采取适当的预防措施进行处置。
3. 切勿口吸移液，避免样本与皮肤和黏膜接触。
4. 请勿使用已超过标签所示失效日期的抗体。
5. 在储存或孵育过程中，请勿将试剂暴露于强光下。
6. 避免试剂发生微生物污染，否则可能出现错误结果。
7. 处理本试剂时，遵循药物非临床研究质量管理规范。
8. 试剂物理外观的任何变化都可能表明试剂变质，此时不应使用试剂。

【GHS 危险等级分类】

未被归为危险品



化学品安全技术说明书提供于 beckman.com/techdocs

【储存、处理条件和稳定性】

本试剂在 2-8°C 下储存时可在有效期内保持稳定。切勿冷冻。

无需复溶。本单抗可直接从瓶中取出后使用。使用前使试剂达到 18-25°C。

【内容物】

叠氮钠防腐剂可在金属下水管道中形成易爆化合物。请参阅 NIOSH Bulletin: Explosive Azide Hazard (8/16/76)（美国国家职业安全与卫生研究所公报：易爆的叠氮化物危险品[76/8/16]）。

为避免可能产生的叠氮化合物堆积，请在丢弃未经稀释的试剂后用水冲洗排污管。对叠氮钠的丢弃必须符合当地的相关规定。

【程序】

用结合单克隆抗体直接标记全血或骨髓，然后裂解红细胞。

初步意见：在以下程序中，建议使用氯化铵裂解液，只要用磷酸盐缓冲液彻底清洗样本，即可取得令人满意的结果。

程序：

1. 吸取 100 μ L 标本到两个试管（对照试管和测试试管）中。
2. 加入 30 μ L 300 μ g/mL 阻断性小鼠单抗 Ig 类（可选）。
3. 在测试试管中加入 20 μ L CD34-PE，或在对照试管中加入 20 μ L 结合同型对照。
4. 轻轻混合，在室温（18-25°C）下避光孵育 15 分钟。
5. 加入 3 mL PBS，清洗制剂。

- 在室温下以 300xg 离心 10 分钟。
- 丢弃上清液，将细胞团块重悬于 100 μ L PBS 中。
- 根据制造商的建议裂解染色的标本。
- 用 PBS 填充试管，清洗制剂。
- 在室温下以 300xg 离心 10 分钟。
- 丢弃上清液，将细胞团块重悬于 1 mL PBS+0.5%甲醛中。制剂已准备就绪，将在 2 小时内通过流式细胞术进行分析。（将制剂在 2 至 8°C 下保存，并在 24 小时内进行分析。）

直接标记分离的单核细胞或培养的细胞。

采用密度梯度离心法分离单核细胞（MNC）后，将细胞重悬于含 0.5% BSA 和 0.05% NaN₃ 的 PBS 中；对活细胞进行计数（台盼蓝试验），并将细胞浓度调整为 5 \times 10⁶ 至 1 \times 10⁷ 个细胞/mL。

细胞培养调整：将细胞团块重悬于含 0.5% BSA 和 0.05% NaN₃ 的 PBS 中，并将细胞浓度调整为 5 \times 10⁶ 至 1 \times 10⁷ 个细胞/mL。

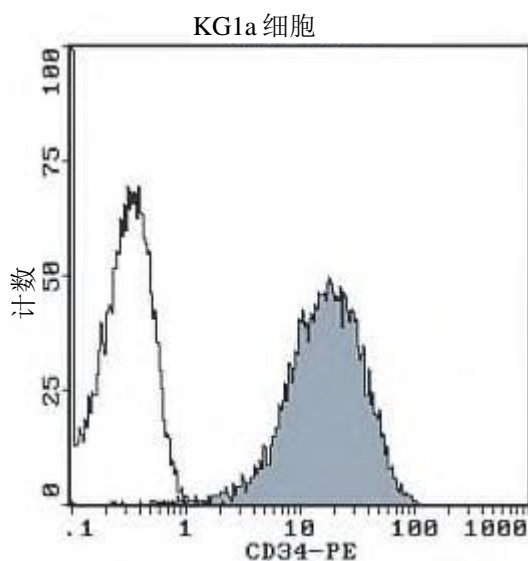
直接免疫标记程序：

- 吸取 100 μ L 细胞悬液到两个试管（测试试管和对照试管）中。
- 加入 30 μ L 300 μ g/mL 阻断性小鼠单抗 Ig 类（可选）。
- 在测试试管中加入 20 μ L CD34-PE，或在对照试管中加入 20 μ L 结合同型对照。
- 轻轻混合，在 2-8°C 下避光孵育 30 分钟。
- 加入 3 mL 含 0.5% BSA 和 0.05% NaN₃ 的冷（2-8°C）PBS，清洗制剂
- 在 2-8°C 下以 300xg 离心 5 分钟。
- 重复步骤 5 和步骤 6 两次。
- 将染色的细胞团块重悬于 1 mL 冷（2-8°C）PBS 中。在 2 小时内通过流式细胞术进行分析。（可将细胞固定在含 0.5% 甲醛的 PBS 中，在 2-8°C 下保存，并在 24 小时内进行分析。）

【示例数据】

以下直方图为 KG-1a 细胞系的单参数直方图（计数与荧光强度）。使用 CD34-PE 单克隆抗体进行染色。同型对照标记（有关 PN，请参见目录）显示为浅色。

通过 COULTER EPICS XL 流式细胞仪进行采集。使用 XL System II 软件进行分析。



【商标】

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是贝克曼库尔特（美国）股份有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

【其他信息】

欲获得其他信息，或收到破损产品，请致电 400 821 8935 与贝克曼库尔特客户服务部联系，或联系当地贝克曼库尔特代表。

【符号说明】

符号词汇表发布于 beckman.com/techdocs（文件编号 B60062）

【说明书版本说明】

原文说明书文档版本：B59933AB，原文说明书生效日期：2019 年 09 月；

中文说明书文档版本：B59933AB-CN，中文说明书生效时间：2024 年 4 月；

中文说明书 B59933AB-CN 内容直接翻译自原文说明书 B59933AB。

【参考文献】

1. Watt, S.M., Karhi, K., Gatter, K., Furley, A.J.W., Katz, F.E., Healy, L.E., Altass, L.J., Bradley, N.J., Sutherland, D.R., Levinsky, R., Greaves, M.F., "Distribution and epitope analysis of the cell membrane glycoprotein (HPCA-1) associated with human hematopoietic progenitor cells", 1987, *Leukemia*, 1, 1, 417-426.
2. Sutherland, D.R., Watt, S.M., Dowder, G., Karhi, K., Baker, M.A., Greaves, M.F., Smart, J.E., "Structural and partial amino-acid sequence analysis of the human hematopoietic progenitor cell antigen CD34", 1988, *Leukemia*, 12, 2, 793-803.
3. Simmons, D.L., Satterthwaite, A.B., Tenen, D.G., Seed, B., "Molecular cloning of a cDNA encoding CD34: A sialomucin of human hematopoietic stem cells", 1992, *J. Immunol.*, 1, 148, 267-271.
4. Greaves, M.F., Brown, J., Molgaard, H.V., Spurr, N.K., Robertson, D., Delia, D., Sutherland, D.R., "Molecular features of CD34: a hemopoietic progenitor cell-associated molecule", 1992, *Leukemia*, 6, 31-36.
5. Andrews, R.G., Singer, J.W., Bernstein, I.D., "Human hematopoietic precursors in long-term culture, Single CD34+ cells that lack detectable T cell, B cells and myeloid cell antigens produce multiple colony-forming cells when cultured with marrow stromal cells", 1990, *J. Exp. Med.*, 172, 355-358.
6. Lansdorp, P.M., Sutherland, H.J., Eaves, C.J., "Selective expression of CD45 isoforms on functional subpopulations of CD34+ hemopoietic cells from human bone marrow", 1990, *J. Exp. Med.*, 172, 363-366.
7. Civin, C.I., Strauss, L.C., Brovall, c., Jackler, M.J., Schwartz, J.F., Shaper, J.H., "Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hematopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells", 1984, *J. Immunol.*, 1, 133, 157-165.
8. Terstappen, L.W.M.M., Huang, S., Safford, M., Lansdorp, P.M., Loken, M.R., "Sequential generation of hematopoietic colonies derived from single nonlineage-committed CD34+CD38- progenitor cells", 1991, *Blood*, 6, 77, 1218-1227.
9. Civin, C.I., Trischmann, T.M., Fackler, M.J., Bernstein, I.D., Bühring, H.J., Campos, L., Greaves, M.F., Kamoun, M., Katz, D.R., Lansdorp, P.M., Look, A.T., Seed, B., Sutherland, D.R., Tindle, R.W., Uchanska-Ziegler, B., "Summary of CD34 cluster workshop section", 1989, *Leucocyte Typing IV, White Cell Differentiation Antigens*. W. Knapp, et al., Eds., Oxford University Press, 818-825.

10. Delia, D., Lampugnani, M.G., Resnati, M., Dejana, E., Ajello, A., Fontanella, E., Soligo, D., Pierotti, M.A., Greaves, M.F., "CD34 expression is regulated reciprocally with adhesion molecules in vascular endothelial cells in vitro", 1993, *Blood*, 4, 81, 1001-1008.
11. Fina, L., Molgaard, H.V., Robertson, d., Bradley, N.J., Monaghan, P., Delia, D., Sutherland, D.R., Baker, M.A., Greaves, M.F., "Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells", 1990, *Blood*, 12, 75, 2417-2426.
12. Simmons, P.J., Torok-Storb, B., "CD34 expression by stromal precursors in normal human adult bone marrow", 1991, *Blood*, 78, 2848-2853.
13. Greaves, M.F., Titley, I., Colman, S.M., Bühring, H.-J., Campos, L., Castoldi, G.L., Garrido, F., Gaudernack, G., Girard, J.-P., Inglès-Esteve, J., Invernizzi, R., Knapp, W., Lansdorp, P.M., Lanza, F., Merle-Béral, H., Parravicini, C., Razak, K., Ruiz-Cabello, F., Springer, T.A., van der Schoot, C.E., Sutherland, D.R., "CD34 cluster Workshop report", 1995, *Leucocyte Typing V, White Cell Differentiation Antigens*. Schlossman, S.F., et al., Eds., Oxford University Press, 840-846.



免疫泰克有限公司 IMMUNOTECH S.A.S. (a Beckman Coulter Company) , 130, avenue de Lattre de Tassigny, BP 177, 13276 Marseille cedex 9, France, 33-491 172 727