CYTO-STAT®
triCHROME™
CD8-FITC/CD4-RD1/
CD3-PC5

REF **6607053 - 50 тестов**

Ч.№ 4238051-JB

CE BECKMAN COULTER®

	CD8-FITC	CD4-RD1	CD3-PC5
Специфичность	CD8	CD4	CD3
Клон	SFCI21Thy2D3	SFCI12T4D11	UCHT1
Гибридома	NS-1 x BALB/c	NS-1 x BALB/c	NS-1 x BALB/c
Иммуноген	Тимоциты человека[2,20]	Периферические Т-лимфоциты человека[2,14,18,33]	Тимоциты человека и лимфоциты периферической крови, взятые у человека с клеточным лейкозом Сезари[2,32]
Цепь Ig (иммуноглобулинов)	IgG1[2,19,32]	IgG1[2,19,32]	IgG1[2,19,32]
Вид	Мышь	Мышь	Мышь
Источник	Кондиционированная среда	Кондиционированная среда	Кондиционированная среда
Очистка	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография	Аффинная хроматография
Флуоресценция	Возбуждается при 468-509 nm / Излучает на 504-541 nm	Возбуждается при 486-580 nm / Излучает на 568-590 nm	Возбуждается при 486-580 nm / Излучает на 660-680 nm
Конъюгирование	FITC (ФИТЦ, Флуоресцин изотиоцианат)	RD1 (Фикоэритрин)	PC5 (Фикоэритрин-Cy5)
Молярная концентрация	FITC/Белок: 3-10	RD1/Белок: 0,5-1,5	PC5/Белок: 0,5-1,5
Определение светорассеивания	Переднее и (или) боковое	Переднее и (или) боковое	Переднее и (или) боковое

МОНОКЛОНАЛЬНОЕ АНТИТЕЛО

IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

Реагент с Моноклональными Антителами CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5 – это трехцветный флуоресцирующий реагент, включающий три мышиных моноклональных антитела. Все три антитела помечены флуорохромами разных цветов. Реагент одновременно обеспечивает идентификацию и подсчет абсолютного количества CD3+, абсолютного количества CD4+, абсолютного количества CD8+, относительного количества CD3+/CD4+ относительного количества CD3+/CD8+ лимфоцитов в цельной крови методом проточной цитометрии.[1-3] CYTO-STAT/COULTER CLONE® Mo2-RD1/KC56-FITC используется для определения положения селектора лимфоцитов и для проведения измерения нелимфоцитарной примеси в селекторе. Изотипический контроль, CYTO-STAT triCHROME MsIgG1-FITC/MsIgG1-RD1/ MsIgG1-PC5, используется для отслеживания неспецифического мечения.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Популяция лимфоцитов в периферической крови человека состоит из трех типов клеток: Т (происходящие из тимуса), В (происходящие из костного мозга) и нулевые клетки.[4] Эти типы клеток морфологически неразличимы посредством микроскопии, но могут быть идентифицированы по специфическим антигенным отличиям клеточных мембран.

Т- и В- лимфоциты играют ключевую роль в функционировании иммунной системы. Различные подтипы Т-лимфоцитов могут распознавать специфические антигены, выполнять эффекторные функции и/или управлять как видом, так и интенсивностью клеточных и/или гуморальных иммунных реакций. После активации антигенами или макрофагами посредством Т-лимфоцитов, специфические В-лимфоциты дифференцируются в плазмациты, которые синтезируют и выделяют специфические иммуноглобулины (Ig).

В прошлом Т- и В-лимфоциты идентифицировались и подсчитывались с использованием клеточных маркеров, таких как рецептор для эритроцита барана на Т-лимфоцитах (Е-розетка) и поверхностный мембранный антиген (Sm Ig) на В-лимфоцитах.[5,6] Хотя Е-розетка является специфической для Т-лимфоцитов, ее применение ограничено вследствие того, что она обеспечивает визуальную идентификацию и подсчет комплексов эритроцит барана-Т-лимфоцит вручную лишь посредством оптической микроскопии. Измерение SmIg для идентификации и подсчета В-лимфоцитов также имеет ограничение, заключающееся в том, что другие клеточные популяции могут производить SmIg и/или связывать Ig посредством рецепторов к Fc-фрагменту IgG, что проявляется ложноположительной реакцией.

Позже для идентификации и подсчета Т- и В-лимфоцитов были разработаны моноклональные антитела.[6,7] По сравнению с относительно неспецифическими поликлональными антителами (гетероантисыворотка), которые вырабатываются против этих клеточных популяций, моноклональные антитела связывают специфические Т-клеточные и В-клеточные поверхностные антигены. Это обеспечивает более правильные и точные измерения лимфоцитов, а также идентификацию различных стадий дифференцирования Т-клеток и В-клеток при использовании вместе с другими клеточными маркерами (TdT, HLA-D родственный антиген (человеческий лейкоцитарный антиген), SmIg).

Различные поверхностные антигены экспрессируются и исчезают на Т- и В-лимфоцитах в зависимости от стадии их созревания (дифференцировки) и/или функционального состояния клеткок. Начав экспрессировать антиген, клетка может коэкспрессировать один или несколько из этих антигенов в течение различных периодов времени.

Экспрессия Т-лимфоцитами общих Т-клеточных поверхностных антигенов происходит в следующем порядке: CD7 (ранний протимоцит); CD2 (промежуточный протимоцит); CD5 (незрелый тимоцит), цитоплазматический CD3 (незрелый и промежуточный тимоцит) и CD3 (зрелый тимоцит).[3,7] Затем следует коэкспрессия (обыкновенный тимоцит), а потом специализированная экспрессия (зрелый тимоцит) антигенов клеточной поверхности CD4 (индуктора) и CD8 (супрессора/цитотоксической клетки).[3,7] CD7, CD2, CD5 и CD3 продолжают коэкспрессироваться с CD4 или CD8 в течение всего процесса дифференцировки Т-лимфоцитов, в том числе на покоящихся и активированных зрелых Т-лифоцитах периферической крови или лимфоидной ткани.

Экспрессия В-лимфоцитами общих В-клеточных поверхностных антигенов происходит в следующем порядке: CD19 (коммитированная В-клетка-предшественник/про-В-клетка); CD20 (ранняя пре-В-клетка).[3,7,8]CD19 и CD20 продолжают коэкспрессироваться в течение всего процесса дифференцировки В-лимфоцитов, в том числе и на покоящихся и активированных зрелых В-лифоцитах периферической крови или лимфоидной ткани. Оба антигена исчезают на последней стадии дифференцирования В-лимфоцита, стадии плазматической клетки.

CD21 (покоящийся зрелый В-лимфоцит периферической крови или лимфоидной ткани) и CD22 (пре-В-клетка) представляют эволюционно стабильные (консервативные) антигены В-клеточной поверхности, которые теряются зрелым В-лимфоцитом периферической крови или лимфоидной ткани в процессе активации.[3,8] Поверхностная экспрессия CD22 предваряется цитоплазматической экспрессией CD22 (про-В-клетка).

Реагент с моноклональными антителами, специфический для общегоТ-клеточного и общего В-клеточного поверхностного антигена, может быть использован для идентификации и подсчета зрелых Т- и В-лимфоцитов соответственно. Реагент с моноклональными антителами, специфическими для конкретного антигена клеточной поверхности, также может быть использован для определения созревания (дифференцировки) и/или функционального состояния популяции лимфоцитов. Настоящий тест использует моноклональные антитела CD3, CD4 и CD8 для идентификации и подсчета поверхностных антигенов зрелой Т, индуктора Т и супрессора/цитотоксического Т-лимфоцита в периферической крови посредством специфического связывания с поверхностными антигенами недифференцированной Т-клетки, Т-клетки-индуктора, Т-клетки-супрессора/ цитотоксической клетки, CD3, CD4 и CD8 соответственно.

CD3

Антитело к антигену CD3 является специфическим для эпсилон-цепи состоящего из пяти цепей компонента CD3 TCR комплекса.[3,9] Молекулярная масса этой цепи составляет 20 kd.[9] Это специфический для клеточной линии общий для Т-клеток антиген, в норме экспрессирующийся на поверхности зрелых тимоцитов и на покоящихся и активированных зрелых Т-лимфоцитах периферической крови (как в популяциях индукторов, так и супрессоров и цитотоксических клеток).[10-12]

CD4

Антиген CD4 имеет молекулярную массу 62 kd.[3,13] Он присутствует на тимоцитах и популяции индукторов Т-лимфоцитов периферической крови.[13,14] Также в небольшом количестве он экспрессируется моноцитами.[15] CD4+-лимфоциты играют ключевую роль в регуляции иммунной реакции.[16,17] В

периферической крови CD4+-лимфоциты выполняют функцию индуктора для взаимодействий Т-Т, Т-В и Т-макрофаг.[18] Антиген CD4 вступает в реакцию с антигеном главного комплекса гистосовместимости (MHC) II класса на клетках-мишенях.[13,18]

CD8

Антиген CD8 имеет молекулярную массу 68 kd.[3,19] Обычно он присутствует приблизительно на 80% тимоцитов и приблизительно 30-35% Т-лимфоцитов периферической крови, а также на некоторых Т-киллерах (NK).[13,20,21] CD8+-лимфоциты играют ключевую роль в регуляции иммунной реакции посредством супрессорного (подавляющего) и цитотоксического действия.[16-18] Антиген CD8 вступает в реакцию с антигеном главного комплекса гистосовместимости (MHC) I класса на клетках-мишенях.[13,18]

КЛИНИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

CD3+, CD4+ и/или CD8+ лимфоциты

Количества CD3+, CD4+ и/или CD8+ лимфоцитов в процентах и абсолютные количества могут быть полезны для оценки иммунного статуса, сопутствующего известным или неизвестным болезненным состояниям, а также для отслеживания уровней лимфоцитов после трансплантации органов.[22-29]

Например, идентификация аномальных уровней CD3+, CD4+ и/или CD8+ лимфоцитов может помочь в диагностике и/или прогнозировании различных аутоиммунных заболеваний, связанных с изменением количества белых клеток крови (лейкоцитов). Изменения количества CD3+, CD4+ и/или CD8+ лимфоцитов в процентах, зарегистрированные после трансплантации органа (например, почки), обусловливают применение измерений CD3+, CD4+ и/или CD8+ лимфоцитов при отслеживании изменений в этих клеточных популяциях.

Идентификация аномальных уровней CD4+ лимфоцитов также может быть полезной при диагностике и прогнозировании иммунодефицитного состояния. Например, действие вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), этиологического фактора синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД) заключается в значительной иммуносупрессии преимущественно вследствие селективного истощения CD4+ лимфоцитов, которые осуществляют экспрессию рецептора вируса (антигена CD4).[15, 30] Прогрессирующему клиническому и иммунологическому ухудшению обычно соответствует падение количества CD4+ лимфоцитов.[15]

Соотношение Т4/Т8

Связанные с заболеванием изменения в уровнях CD4+ и/или CD8+ лимфоцитов могут изменить соотношения Т4/Т8 числа: индукторов: супрессоров/цитотоксических клеток. Следовательно, соотношения Т4/Т8 могут быть использованы в качестве диагностических и прогностических индикаторов состояния иммунной системы.

В качестве лабораторных параметров для оценки СПИД-ассоциированного комплекса и СПИДа наиболее широко применялись соотношения Т4/Т8 вместе с соответствующими количествами CD4+ клеток лимфоцитов.[15,31] Соотношения Т4/Т8 падают до нуля у пациентов с запущенным СПИДом, при этом уровни CD4+ лимфоцитов не выявляются.[15] В подобных случаях уровни CD8+ лимфоцитов могут быть нормальными, повышенными или пониженными.

Пониженные уровни CD4+ лимфоцитов и повышенные уровни CD8+ лимфоцитов в процентах без значительных изменений в соотношениях Т4/Т8 наблюдались у пациентов со стабильной функцией почечного аллотрансплантата после трансплантации.[29] Кроме того, малые соотношения Т4/Т8 и пониженные уровни CD4+ лимфоцитов в процентах были зарегистрированы у пациентов во время фенотипического восстановления, сопровождающего аутологичную трансплантацию костного мозга.[27,28]

ПРИНЦИПЫ ТЕСТИРОВАНИЯ

Данный тест основывается на способности моноклональных антител связываться с поверхностью клеток, осуществляющих экспрессию отдельных эпитопов. CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5 является комбинацией из трех мышиных моноклональных антител, специфических для различных поверхностных клеточных антигенов. Специфическое мечение клетки производится посредством инкубации цельной крови с трехцветным реагентом CYTO-STAT triCHROME. Вторая проба цельной крови, меченная CYTO-STAT/COULTER CLONE Mo2-RD1/KC56-FITC, используется для оценки чистоты работы лимфоцитарного селектора. Другая проба цельной крови, меченная изотипическим контролем CYTO-STAT triCHROME MsIgG1-FITC/MsIgG1-RD1/MsIgG1-PC5, используется для оценки неспецифической фоновой флуоресценции. Красные кровяные клетки лизируются, а оставшиеся белые кровяные клетки анализируются путем проточной цитометрии с использованием селектора лимфоцитов. На первой гистограмме селектор лимфоцитов определяется как имеющий низкий сигнал переднего светорассеяния Forward Scatter (FS) и низкий сигнал бокового светорассеяния Side Scatter (SS). На второй гистограмме процент положительно окрашенных клеток определяется для четырех квадрантов: CD3-/CD4+ (только положительная флуоресценция RD1), CD3+/CD4+ (положительная флуоресценция PC5/RD1), CD3-/CD4- (отрицательная флуоресценция PC5/RD1) и CD3+/CD4- (только положительная флуоресценция PC5). На третьей гистограмме процент положительно окрашенных клеток определяется для четырех квадрантов: CD3-/CD8+ (только положительная флуоресценция FITC), CD3+/CD8+ (положительная флуоресценция PC5/FITC), CD3-/CD8- (отрицательная флуоресценция PC5/FITC) и CD3+/CD8- (только положительная флуоресценция PC5).

РЕАГЕНТ

Смотрите таблицу странице 1.

СОСТАВ РЕАГЕНТА

Концентрация антител — 0,25/0,25/0,5 µg/тест.

Кроме антител, в реагент входят 0,2% БСА, 0,01 М фосфата калия, 0,15 М NaCl, 0,1% NaN_3 и стабилизаторы.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

1. Этот реагент содержит 0,1% азида натрия. Азид натрия в кислотной среде образует азотистоводородную кислоту, которая является исключительно токсичным соединением. Во время утилизации соединения азида следует смывать проточной водой. Рекомендуется соблюдать эти меры предосторожности во избежание образования отложений в металлических трубах, что может создавать взрывоопасные условия. При попадании в глаза или на кожу, тщательно промойте водой.
2. С образцами, пробами и всеми материалами, соприкасающимися с ними, следует работать как с потенциально передающими инфекцию и утилизировать их с соответствующими мерами предосторожности.
3. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте контакта проб с кожей и слизистыми оболочками.
4. Не используйте реагент после истечения срока годности, указанного на этикетке флакона.
5. Минимизируйте воздействие света на реагент при его хранении и инкубации.
6. Избегайте бактериального загрязнения реагентов, так как оно может привести к ошибочным результатам.
7. Следуйте надлежащей лабораторной практике (GLP) при работе с этим реагентом.
8. При попадании в организм существует опасность отравления.
9. При контакте с кожей немедленно смойте большим количеством воды.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Невскрытый реагент сохраняет стабильность до истечения срока годности, указанного на этикетке, при хранении при температуре 2-8°C. Открытый реагент сохраняет стабильность в течение 90 дней после вскрытия при хранении при температуре 2-8°C. Сразу после использования вернуть реагенты в условия с температурой 2-8°C. Не замораживать. Минимизируйте попадание света.

ПРИЗНАКИ РАЗРУШЕНИЯ

На разрушение может указывать любое изменение физических свойств реагента (нормальный вид – прозрачная жидкость розового цвета) или значительные колебания показателей, полученных для контрольных образцов; в таком случае использовать реагент не следует.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

Подготовки не требуется. Данный реагент CYTO-STAT triCHROME используется прямо из флакона.

ОТБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

ВНИМАНИЕ: Стабильность проб крови очень изменчива. Для получения оптимальных результатов начинайте анализ в течение 6 часов после венепункции. Непомеченная, предохраняемая от свёртывания кровь до начала процедуры должна храниться при температуре 20-25°C. Не охлаждайте.

Заберите венепункцией в асептических условиях образец венозной крови в пробирку для забора крови, используя соответствующий антикоагулянт (рекомендуется ЭДТА).[34] Для каждого теста требуется 100 µL цельной крови. Заберите достаточное количество крови (от 1 до 2 mL на пробирку) для проведения теста и постановки контроля и храните аутологичную плазму на случай, если будет необходимо развести пробу. Подсчёт белых кровяных клеток и проверка жизнеспособности клеток должны быть проведены в соответствии с установленной лабораторной процедурой для каждого образца венозной крови. Рекомендуемая жизнеспособность клеток ≥90%, но её может быть сложно добиться в некоторых аномальных образцах.

ПРОЦЕДУРА ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО МЕЧЕНИЯ КЛЕТОЧНОЙ ПОВЕРХНОСТИ МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ CYTO-STAT triCHROME

ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5
Ч.№ 6607053 – 50 тестов (0,5 mL)

ТРЕБУЮЩИЕСЯ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Реагент лизиса эритроцитов (по требованию):

Система реагентов COULTER® IMMUNOPREP™ для Рабочей станции COULTER Q-PREP™, Ч.№ 7546946 – 100 тестов

Разбавитель (при необходимости) Аутологичная плазма

ИЛИ

Система реагентов COULTER IMMUNOPREP для Рабочей станции COULTER MULTI-Q-PREP™ или TQ-Prep™, Ч.№ 7546999 – 300 тестов

Разбавитель (при необходимости) Аутологичная плазма

CYTO-STAT triCHROME MsIgG1-FITC/MsIgG1-RD1/ MsIgG1-PC5, Ч.№ 6607054 – 50 тестов (0,5 mL)

CYTO-STAT/COULTER CLONE Mo2-RD1/KC56 (T200)-FITC, Ч.№ 6603909 – 50 тестов (0,5 mL)

Дополнительные реагенты

Флуоросферы Flow-Count™, Ч.№ 7547053 - 200 тестов (20 mL)

Контрольные клетки COULTER CYTO-TROL™, Ч.№ 6604248 - 50 тестов

Набор клеток CYTO-COMP™, Ч.№ 6607023 – 50 тестов

Набор реагентов CYTO-COMP, Ч.№ 6607021 – 50 тестов

тест-пробирки 12 x 75 mm

Пробирки для забора крови с антикоагулянтом (рекомендуется ЭДТА)

Пипетки для переноса

Пастеровские пипетки

Микропипетки

Вихревой смеситель

Проточный цитометр (Обратитесь к главе Требуемое оборудование)

Счётчик клеток или гемацитометр

Фильтр (для COULTER EPICS™ XL™/XL-MCL™ только с 3 датчиками флуоресценции) Ч.№ 6915056

Ватные палочки

ТРЕБУЕМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Проточный цитометр, который обеспечивает намагничивание и замеряет испускание светорассеивания и флуоресценцию, как указано в таблице на странице 1 и применимо для Вашего специфического продукта. Пользователи должны обратиться к руководствам изготовителя прибора за специфическими инструкциями для установки напряжения фотоэлектронного умножителя и флуоресцентной компенсации до проведения анализа.

ПРОЦЕДУРА

1. Оптимальное мечение достигается при количестве белых кровяных клеток в диапазоне 3-10 x 10^3 клеток/µL. Если количество белых кровяных клеток превышает 10 x 10^3 клеток/µL, требуется разбавление, если же количество белых кровяных клеток меньше, чем 3 x 10^3 клеток/µL, требуется центрифугирование и ресуспендирование, для получения количества клеток в диапазоне 3-10 x 10^3 клеток/µL. Аутологичная плазма рекомендуется в качестве растворителя при использовании Системы реагентов COULTER Q-PREP/ IMMUNOPREP, Системы реагентов COULTER MULTI-Q-PREP/IMMUNOPREP или Системы реагентов COULTER TQ-Prep/IMMUNOPREP.

Аномальные пробы

   a. Большое количество белых кровяных клеток (>10 x 10^3 клеток/µL)
      10-20 x 10^3: Разведите кровь в соотношении 1:2.
      20-30 x 10^3: Разведите кровь в соотношении 1:3.
      30-40 x 10^3: Разведите кровь в соотношении 1:5.
      40-60 x 10^3: Разведите кровь в соотношении 1:6.
      60-100 x 10^3: Разведите кровь в соотношении 1:10.
      100-200 x 10^3: Разведите кровь в соотношении 1:20.
   b. Малое количество белых кровяных клеток (<3 x 10^3 клеток/µL)
      1) Ценрифугируйте кровь при температуре 20-25°C при 500 x g в течение 5 минут.
      2) Снимите лейкоцитную плёнку с помощью пастеровской пипетки, забирая часть красных кровяных клеток и плазмы, чтобы быть уверенным, что извлечены все белые кровяные клетки.
      3) Полностью ресуспендируйте клетки, несколько раз перемешав пастеровской пипеткой.
      4) Определите концентрацию клеток, используя счётчик клеток или гемацитометр.
      5) Доведите разбавителем концентрацию клеток до 10 x 10^3 клеток/µL.
2. Для каждой пробы промаркируйте тест-пробирки 12 x 75 mm – две с моноклональными антителами, одну с изотипическим контролем. Добавьте 10 µL CYTO-STAT/COULTER CLONE Mo2-RD1/KC56-FITC or CYTO-STAT triCHROME MsIgG1-FITC/ MsIgG1-RD1/MsIgG1-PC5 изотипического контроля или CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/ CD3-PC5 в промаркированную соответствующим образом тест-пробирку.
3. Добавьте по 100 µL венозной крови в каждую тест-пробирку. Необходимо проявить внимательность, чтобы не допустить загрязнение кровью краев и стенок тест-пробирок, иначе может произойти неполный лизис.
4. Аккуратно смешайте, пользуясь вращательной мешалкой. Осуществите инкубацию реакционных смесей при температуре 20-25°C на 10-12 минут.

ВАЖНО: Если капли реагента остаются краю тест-пробирки, их следует удалить, иначе нелизированные красные кровяные клетки могут загрязнить образец и исказить результаты. Для их удаления можно использовать ватную палочку.

5. Лизируйте красные кровяные клетки в каждой тест-пробирке, применяя процедуру, рекомендованную для выбранного метода лизиса (Система реагентов COULTER Q-PREP/IMMUNOPREP, Система реагентов COULTER MULTI-Q-PREP/ IMMUNOPREP или Система реагентов COULTER TQ-Prep/IMMUNOPREP).
6. Проанализируйте клетки на проточном цитометре, позволяющем проводить многоцветный флуоресцентный анализ, должным образом стандартизированном и с использованием селектора лимфоцитов, согласно ПРОЦЕДУРЕ АНАЛИЗА ПРОБЫ, описанной ниже.
   Чтобы минимизировать вероятность неоптимальных результатов, анализируйте помеченные клетки сразу.
   a. Результаты флуоресцентной проточной цитометрии должны быть нанесены на логарифмическую шкалу.
   b. Сигналы переднего светорассеяния Forward Scatter (FS) и бокового светорассеяния Side Scatter (SS) должны быть нанесены на линейную шкалу.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ДЛЯ МАРКЕРОВ ЛИМФОЦИТОВ ПРОЦЕДУРА ПОЛУЧЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ

ПРОЦЕДУРА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА

Убедитесь, что цитометр правильно выровнен и стандартизирован для светорассеяния и интенсивности флуоресценции, согласно рекомендациям производителя (обратитесь к Руководству по эксплуатации прибора).

Флуорохромы флуоресцеин изотиоцианат (FITC), фикоэритрин (RD1) и фикоэритрин-Cy5 (PC5) излучают на разных длинах волн, тем не менее, имеется частичное перекрытие спектров, которое должно быть скорректировано электронной компенсацией. Оптимальные уровни компенсации могут быть определены путем анализа клеток-доноров, помеченных каждым из флуорохромов независимо от других, на двухпараметрической гистограмме. С другой стороны, Клетки CYTO-COMP могут быть помечены соответствующим сочетанием флуорохромов из Набора реагентов CYTO-COMP. И в том, и в другом случае чтобы убедиться, что в двухцветном квадранте (квадрант 2) не происходит мечения каким-либо отдельным флуорохромом, производится регулировка. Контрольные клетки COULTER CYTO-TROL, помеченные CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5, могут использоваться для проверки установок компенсации.

Перед тем как проводить анализ проб, следует пометить контрольные пробы (например, для Контрольных клеток COULTER CYTO-TROL), чтобы убедиться в реакционной способности антител.

Специфические и/или неспецифические антитела, связывающиеся с моноцитами и гранулоцитами в пробе, могут быть исключены при правильном использовании селектора лимфоцитов на проточном цитометре.[35]

Реагент CD14/CD45 с моноклональными антителами, CYTO-STAT/COULTER CLONE Mo2-RD1/KC56 (T200)-FITC, запускается для каждого образца, чтобы установить надлежащие настройки селектора лимфоцитов для правильного исключения моноцитов.

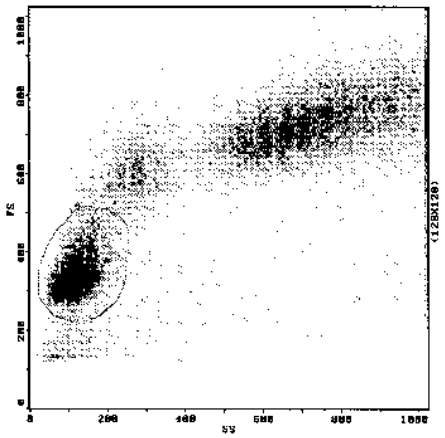
Изотипический контроль CYTO-STAT triCHROME MsIgG1-FITC/MsIgG1-RD1/MsIgG1-PC5 используется, чтобы определить положение курсора для учета неспецифического связывания Fc фрагмента антител с лимфоцитами пробы. Курсоры располагаются таким образом, чтобы включить 98% (номинальное значение) неспецифической флуоресценции в квадрант 3. Неспецифическая флуоресценция в квадрантах 1, 2 и 4, для любой контрольной пробы, обычно ограничиваются 1-2% или менее для здорового человека (если это значение превосходит 1-2%, результаты теста могут быть ошибочными). Более высокие значения могут обнаружиться при некоторых неопластических заболеваний.

ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА ПРОБЫ

ВНИМАНИЕ: Если лазер проточного цитометра смещен, или установлены неподходящие фильтры, или же неправильно настроены селекторы, результаты могут быть ошибочными.

1. Для пробирки с Mo2-RD1/KC56-FITC выведите двухпараметрическую гистограмму SS (90°LS) к FS. Может быть получен трехчастный дифференциал. Установите селектор для лимфоцитов с низким FS и низким SS (см. Рисунок 1). Оптимизируйте селектор лимфоцитов для чистоты и восстановления лимфоцитов (обратитесь к вкладышу на упаковке CYTO-STAT/COULTER CLONE Mo2-RD1/ KC56-FITC).

Рисунок 1. Двухпараметрическая гистограмма SS к FS для идентификации лимфоцитов (селектор A).



2. Для изотипического контроля составьте двухпараметрическую гистограмму с использованием MsIgG1-PC5 (FL3 LOG или FL4 LOG) MsIgG1-RD1 (FL2 LOG) и селектора лимфоцитов (см. Рисунок 2). Установите Quad Stats, чтобы определить 98% (номинальное значение) неспецифического мечения используям изотипический контроль. Выведите вторую двухпараметрическую гистограмму с использованием MsIgG1-PC5 (FL3 LOG или FL4 LOG) MsIgG1-FITC (FL1 LOG) и селектора лимфоцитов (см. Рисунок 3). Установите Quad Stats, чтобы определить 98% (номинальное значение) неспецифического мечения используя изотипический контроль.

Рисунок 2. Двухпараметрическая гистограмма MsIgG1-PC5 к MsIgG1-RD1, использовавшаяся для определения Quad Stats 98% (номинального значения) неспецифического мечения с применением селектора лимфоцитов.

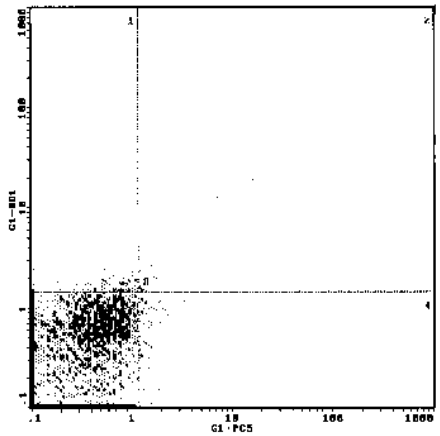
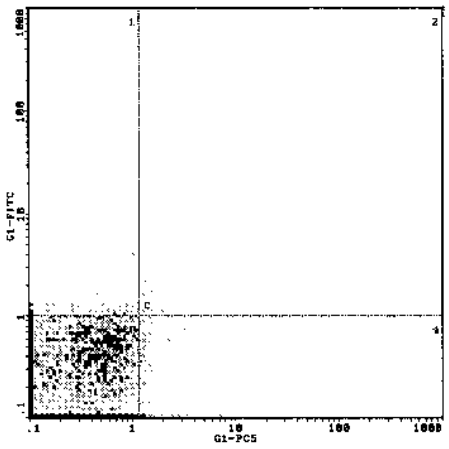


Рисунок 3. Двухпараметрическая гистограмма MsIgG1-PC5 к MsIgG1-FITC, использовавшаяся для определения Quad Stats для 98% (номинального значения) неспецифического мечения с применением селектора лимфоцитов.



3. Для анализа проб используйте Quad Stats, определенные с помощью изотипического контроля, и постройте двухпараметрическую гистограмму на основе CD3-PC5 (FL3 LOG или FL4 LOG) и CD4-RD1 (FL2 LOG) и с использованием селектора лимфоцитов (см. Рисунок 4) и гистограмму на основе CD3-PC5 (FL3 LOG или FL4 LOG) CD8-FITC (FL1 LOG) и с использованием селектора лимфоцитов (см. Рисунок 5).

Следующие гистограммы представляют примеры проб цельной крови в норме, помеченных CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5, лизированных Системой реагентов MULTI-Q-PREP/ IMMUNOPREP и проанализированных с помощью проточного цитометра COULTER EPICS XL-MCL (4 датчика флуоресценции) с использованием селектора лимфоцитов (см. Рисунки 4 и 5). Quad Stats были установлены, чтобы определить 98% (номинальное значение) неспецифического мечения с использованием изотипического контроля.

На Рисунке 4 общее количество CD3-положительных клеток в процентах рассчитано путем сложения значений в квадрантах 2 и 4. Общее количество CD4-положительных клеток в процентах рассчитано путем сложения значений в квадрантах 1 и 2. Количество CD3+/CD4+ в процентах получено прямо из квадранта 2. На Рисунке 5 общее количество CD3-положительных клеток в процентах рассчитано путем сложения значений в квадрантах 2 и 4. Общее количество CD8-положительных клеток в процентах рассчитано путем сложения значений в квадрантах 1 и 2. Количество CD3+/CD8+ в процентах получено прямо из квадранта 2.

Рисунок 4. Двухпараметрическая гистограмма CD3-PC5 к CD4-RD1 с использованием селектора лимфоцитов и Quad Stats, основанных на изотипическом контроле.

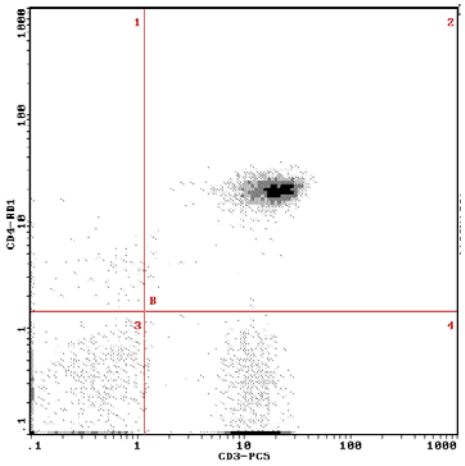
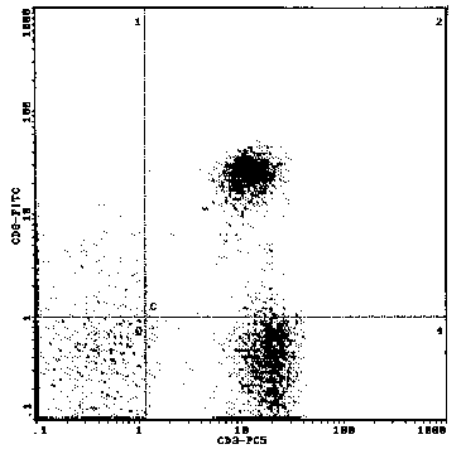


Рисунок 5. Двухпараметрическая гистограмма CD3-PC5 к CD8-FITC с использованием селектора лимфоцитов и Quad Stats, основанных на изотипическом контроле.



АБСОЛЮТНЫЕ КОЛИЧЕСТВА

Абсолютные количества могут быть получены двумя методами. Стандартный (непрямой) метод для расчета абсолютных количеств сочетает результаты гематологии и проточной цитометрии и основан на следующей формуле:

Абсолютное количество (клетки/µL) = Общее количество белых клеток крови (клетки/µL) x % лимфоцитов x % положительно окрашенных клеток ÷ 10^4

В основе метода Flow-Count (прямого) лежит использование флуоросфер Flow-Count для непосредственного определения абсолютных количеств и следующая формула:

Абсолютное количество (клетки/µL) = (Общее количество подсчитанных клеток ÷ Общее количество подсчитанных флуоросфер Flow-Count) × Аналитическая концентрация флуоросфер Flow-Count

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Для получения оптимальных результатов образцы должны быть помечены в течение 6 часов после отбора. Перед мечением и анализом храните образцы в пробирках для забора крови при комнатной температуре. Не охлаждайте. Охлажденные образцы могут давать аномальные результаты.
2. Чтобы минимизировать вероятность неоптимальных результатов, анализируйте меченые клетки сразу.
3. Рекомендуемая жизнеспособность клеток ≥90%, но её может быть сложно добиться в некоторых аномальных образцах.
4. Длительное воздействие на клетки лизирующими реагентами может вызвать разрушение белых клеток крови и потери клеток в исследуемой популяции.
5. Часть красных кровяных клеток может не пройти лизис в следующих случаях: ядросодержащие красные клетки крови, аномальная концентрация белка или гемоглобинопатии могут вызвать ошибочно заниженные результаты из-за учета нелизированных красных клеток крови как лейкоцитов.
6. Данный реагент разработан для использования с препаратами цельной крови. Он может использоваться с Контрольными клетками COULTER CYTO-TROL препарата лиофилизированных лимфоцитов. Не рекомендуется использовать со свежими или замороженными препаратами мононуклеарных клеток.
7. Не следует разбавлять, разводить на аликвоты или замораживать этот реагент. Использовать только в упаковке.
8. Этот реагент предназначен только для использования при проточной цитометрии.
9. Аномальные состояния здоровья не всегда выражаются в аномальном процентном количестве определенных популяций лейкоцитов. У человека в аномальном состоянии могут быть обнаружены те же процентные количества лейкоцитов, что и у здорового. Используйте тест с учетом клинических и других диагностических данных.
10. С некоторыми пациентами могут возникнуть определенные сложности из-за измененных или очень небольших количеств некоторых клеточных популяций.
11. Анализ для некоторых пациентов, подвергающихся лечению OKT3, при помощи реагента с моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5 может быть неверным.[36-38]
12. Результаты, полученные при проточной цитометрии, могут быть ошибочными, если лазер смещен или селектор настроен неверно.
13. Вследствие неприемлемости расхождений, выявляемых при сравнении методик различных лабораторий для определения абсолютного количества лимфоцитов, необходимо провести оценку точности используемого метода.[39]

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Образцы цельной крови были взяты у практически здоровых мужчин и женщин. В группу вошли люди из центрально-западного региона Соединенных Штатов в возрасте 18-85 лет (n = 56), раса не учитывалась. Пробы были окрашены моноклональным антителом CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5. Значения, определенные при помощи проточной цитометрии (COULTER EPICS XL-MCL с использованием селектора лимфоцитов), представляют абсолютное количество CD3+, абсолютное количество CD4+, абсолютное количество CD8+, относительное количество CD3+/CD4+ клеток и относительное количество CD3+/CD8+ клеток и даны в следующей таблице. Общее количество белых клеток и пятичастный дифференциал были получены для каждого образца. Абсолютные количества определялись при помощи стандартного (непрямого) метода. Значения были скорректированы для чистоты лимфоцитов (Пределы селектора лимфоцитов: селекция ≥90% и чистота ≥85%). Величины выражены в процентах от общего количества лимфоцитов и в виде абсолютных количеств (клетки/µL).

Эти значения приведены только как образец. Каждая лаборатория должна установить свои собственные ожидаемые значения по отдельно взятой группе здоровых доноров.

ЦЕЛЬНАЯ КРОВЬ В НОРМЕ

%+ Лимфоцитов	n	Минимум	Максимум	Среднее ±1CO
CD3+	56	66	93	79,7 ±6,1
CD4+	56	39	76	54,2 ±7,7
CD8+	56	16	43	28,0 ±6,1
CD3+/CD4+	56	38	75	53,5 ±7,7
CD3+/CD8+	56	10	40	24,2 ±6,0
Абсолютное количество				
CD3+	56	769	2045	1431 ±332
CD4+	56	437	1627	969 ±239
CD8+	56	236	895	502 ±159
CD3+/CD4+	56	431	1618	957 ±239
CD3+/CD8+	56	163	789	437 ±150

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Антиген CD3 в норме присутствует на клеточной поверхности зрелых тимоцитов, а также находящихся в покое и активированных зрелых Т-лимфоцитов периферической крови (и индуктор, и супрессор/цитотоксические популяции).[10-12]

Антиген CD4 присутствует на тимоцитах и популяции индукторов Т-лимфоцитов периферической крови.[13,14] Также в небольших количествах он экспрессируется на моноцитах.[15]

Антиген CD8 в норме присутствует приблизительно на 80% тимоцитов и приблизительно 30-35% Т-лимфоцитов периферической крови, а также некоторых Т-киллерах (NK).[13,20,21]

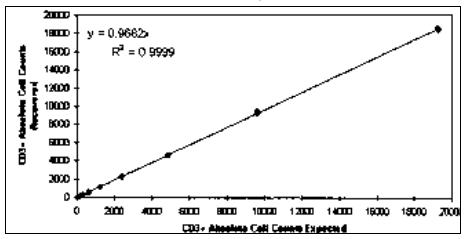
Чтобы оценить перекрёстную реактивность клеток, моноклональное антитело CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5 подверглось испытаниям с использованием образцов крови здоровых взрослых доноров. Результаты показали, что моноклональные антитела CD3, CD4 и CD8 вступают в специфическую реакцию с соответствующей популяцией лимфоцитов. Моноциты тускло окрашиваются CD4 моноклональным антителом, содержащимся в реагенте.

За описанием того, как определить специфическое и неспецифическое мечение моноклональным антителом CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5, обратитесь к разделу ПРОЦЕДУРА КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА.

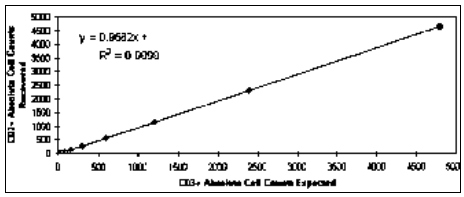
ЛИНЕЙНОСТЬ

Для каждого из 12 последовательных разведений концентрированного образца Контрольных клеток COULTER CYTO-TROL были проведены три повторных измерения для получения ряда концентраций CD3+, CD4+ и CD8+ лимфоцитов. Клетки были помечены реагентом с моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5 и проанализированы посредством проточной цитометрии (COULTER EPICS XL-MCL с использованием селектора лимфоцитов). См. графики ниже.

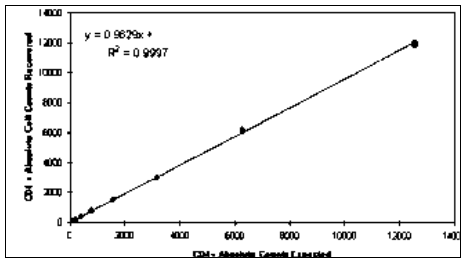
Полный диапазон CD3+ лимфоцитов



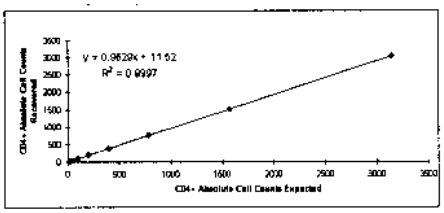
Увеличение низкого диапазона CD3+ лимфоцитов



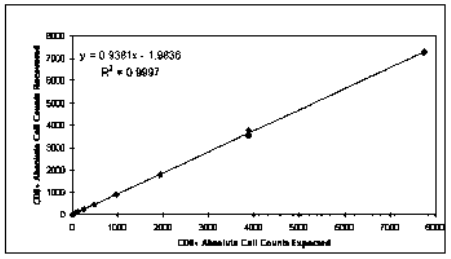
Полный диапазон CD4+ лимфоцитов



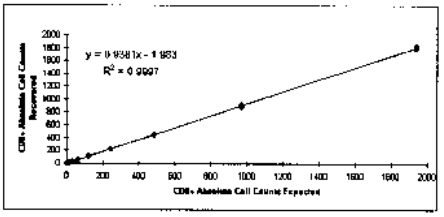
Увеличение низкого диапазона CD4+ лимфоцитов



Полный диапазон CD8+ лимфоцитов



Увеличение низкого диапазона CD8+ лимфоцитов



НАДЕЖНОСТЬ МЕТОДА

Степень согласованности между реагентами на моноклональных антителах CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5 и компаратором CYTO-STAT/COULTER CLONE CD3-ECD/T4-RD1/T8-RD1 изучалась на пробах лизированной цельной крови в норме и при патологии с помощью проточной цитометрии (COULTER EPICS XL-MCL с использованием селектора лимфоцитов). Эти данные представлены в таблице и на рисунках ниже и основываются на предположении, что реагенты обладают одинаковой реакционной способностью по отношению к зрелым Т-лимфоцитам крови, Т-лимфоцитам индукторам и супрессорам/цитотоксическим Т-лимфоцитам. Величины выражены в процентах от общего количества лимфоцитов. Значения были скорректированы для чистоты лимфоцитов (Пределы селектора лимфоцитов: селекция ≥90% и чистота ≥85%).

CD3+ Лимфоциты

Реагент	n	Минимум	Максимум	Среднее ±1CO
CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5	114	53	99	81,7 ±8,1
CD3-ECD/T4-RD1/T8-FITC	114	57	99	82,7 ±8,0

CD4+ Лимфоциты

Реагент	n	Минимум	Максимум	Среднее ±1CO
CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5	114	7	76	39,5 ±17,0
CD3-ECD/T4-RD1/T8-FITC	114	7	73	39,0 ±17,0

CD8+ Лимфоциты

Реагент	n	Минимум	Максимум	Среднее ±1CO
CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5	114	16	79	43,4 ±18,3
CD3-ECD/T4-RD1/T8-FITC	114	16	79	44,2 ±18,3

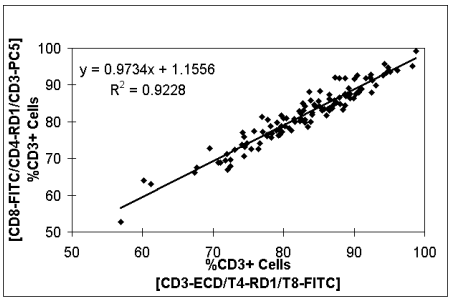
CD3+/CD4+ Лимфоциты

Реагент	n	Минимум	Максимум	Среднее ±1CO
CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5	114	7	75	38,7 ±19,1
CD3-ECD/T4-RD1/T8-FITC	114	6	73	38,3 ±17,0

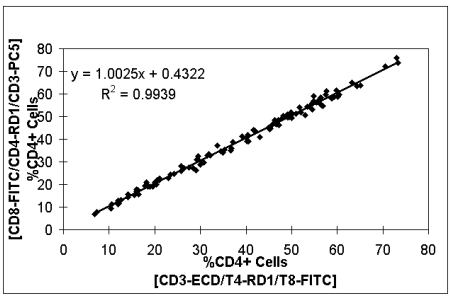
CD3+/CD8+ Лимфоциты

Реагент	n	Минимум	Максимум	Среднее ±1CO
CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5	114	10	78	40,5 ±19,1
CD3-ECD/T4-RD1/T8-FITC	114	10	79	40,9 ±18,9

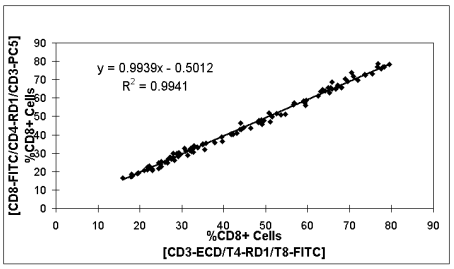
Регрессионный анализ: CD3+ Лимфоциты



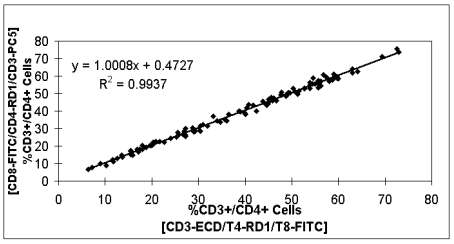
Регрессионный анализ: CD4+ Лимфоциты



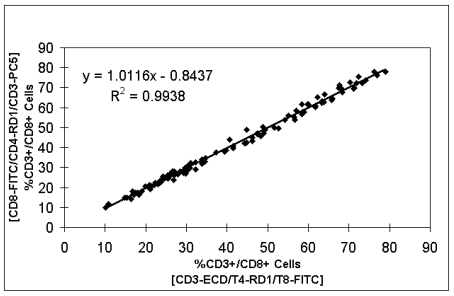
Регрессионный анализ: CD8+ Лимфоциты



Регрессионный анализ: CD3+/CD4+ Лимфоциты



Регрессионный анализ: CD3+/CD8+ Лимфоциты



ТОЧНОСТЬ

Сходимость (Внутрилабораторная)

Десять повторных измерений для каждого из трех уровней концентраций лимфоцитов CD3+ и CD4+ и CD8+ были проведены на проточном цитометре COULTER EPICS XL-MCL. Снижение числа клеток было произведено на образце цельной крови в норме с использованием ферромагнитных частиц, соединенных с моноклональными антителами, для генерации различных уровней. Пробы были помечены реагентом с моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5. Величины выражены в процентах от общего количества лимфоцитов.

Уровень	n	Средний %CD3+	±1CO	%КИ	Средний %CD4+	±1CO	%КИ	Средний %CD8+	±1CO	%КИ
1	10	45,5	0,66	1,46	10,9	0,53	4,84	11,0	0,35	3,16
2	10	77,9	1,49	1,91	57,7	1,14	1,97	27,4	0,81	2,94
3	10	86,0	0,65	0,75	74,7	0,52	0,70	64,2	0,34	0,52

Межлабораторная

Измерения проводились в один и тот же день тремя отдельными лабораториями из Корпорации Coulter с использованием трех различных проточных цитометров. На каждом приборе было проведено десять повторяющихся измерений. Для всех измерений использовался один образец крови, полученной от здорового донора цельной крови человека. Образец крови был разделен на три части, и каждая лаборатория произвела мечение образца реагентом с моноклональными антителами CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5. Величины выражены в процентах от общего количества лимфоцитов.

Лаборатория/прибор	n	Средний % CD3+	±1CO	%КИ	Средний % CD4+	±1CO	%КИ	Средний % CD8+	±1CO	%КИ
1 EPICS XL	10	72,6	0,56	0,77	52,3	0,50	0,97	20,9	0,61	2,90
2 EPICS XL	10	73,3	0,71	0,97	53,1	0,56	1,06	20,8	0,46	2,22
3 EPICS XL	10	73,4	0,56	0,76	53,1	0,66	1,24	21,1	0,62	2,94

ИЗБРАННЫЕ ИСТОЧНИКИ

1. Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, Ritz J, Shaw S, Silverstein R, Springer R, Tedder TF and Todd RF, eds. 1995. Leukocyte Typing V. Oxford, UK: Oxford University Press, pp. 262, 263, 268.
2. Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C and Schlossman SF, eds. 1984. Leukocyte Typing. New York, NY:Springer-Verlag, pp. 28, 41-42, 44, 196.
3. McMichael AJ, ed. 1987. Leukocyte Typing III. Oxford, UK: Oxford University Press, pp. 38, 40, 42, 43, 116, 167, 170-172, 176, 199, 206, 302-308, 315, 475.
4. Reinherz EL and Schlossman SF. 1980. The differentiation and function of human T lymphocytes. Cell 19:821-827.
5. Aiuta F, Cerottini J-C, Coombs RRA, Cooper M, Dickler HB, Froland Fudenberg HH, Greaves MF, Grey HM, Kunkel HG, Natvig J, Preud'homme J-L, Rabellino E, Ritts RE, Rowe DS, Seligmann M, Siegal FP, Stjernsward J, Terry WD and Wybran J. 1975. Identification, enumeration and isolation of B and T lymphocytes from human peripheral blood. International Union of Immunological Societies (IUIS), Report - July 1974. Clin Immunol and Immunopathol 3:584-597.
6. Foon KA and Todd RF. 1986. Immunologic classification of leukemia and lymphoma. Blood 68:1-31.
7. Drexler HG, Gignac SM and Minowada J. 1988. Routine immunophenotyping of acute leukaemias. Blut 57:327-339.
8. Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM and Bernstein ID. 1986. Leukocyte Typing II. New York, NY: Springer-Verlag, Vol 2: pp. 8, 15-25.
9. Barclay AN, Birkeland ML, Brown MH, Beyers AD, Davis SJ, Somoza Williams AF eds. 1993. The Leukocyte Antigen Facts Book. London, UK: Academic Press, pp.106-109.
10. Reinherz EL and Schlossman SF. 1980. The differentiation and function of human T lymphocytes. Cell 19:821-827.
11. Reinherz EL, Meuer S, Fitzgerald KA, Hussey RE, Levine H and Schlossman SF. 1982. Antigen recognition by human T lymphocytes is linked to surface expression of the T3 molecular complex. Cell 30:735-743.
12. Meuer SC, Acuto O, Hussey RE, Hodgdon JC, Fitzgerald KA, Schlossman SF and Reinherz EL. 1983. Evidence for the T3-associated 90K heterodimer as the T-cell antigen receptor. Nature 303:808-810.
13. Reinherz EL, Meuer SC and Schlossman SF. 1983. The delineation of antigen receptors on human T lymphocytes. Immunol Today 4:5-8.
14. Reinherz EL, Morimoto C, Fitzgerald KA, Hussey RE, Daley JF and Schlossman SF. 1982. Heterogeneity of human T4+ inducer T cells defined by a monoclonal antibody that delineates two functional subpopulations. J Immunol 128:463-468.
15. De Martini RM and Parker JW. 1989. Immunologic alterations in human immunodeficiency virus infection: A review. J Clin Lab Anal 3:56-70.
16. Morimoto C, Letvin NL, Distaso JA, Aldrich WR and Schlossman SF. 1985. The isolation and characterization of the human suppressor inducer T cell subset. J Immunol 134:1508-1515.
17. Morimoto C, Letvin NL, Distaso JA, Brown HM and Schlossman SF. 1986. The cellular basis for the induction of antigen-specific T8-suppressor cells. Eur J Immunol 16:198-204.

18. Meuer SC, Schlossman SF and Reinherz EL. 1982. Clonal analysis of human cytotoxic T lymphocytes: T4+ and T8+ effector T cells recognize products of different major histocompatibility regions. Proc Natl Acad Sci USA 79:4395-4399.
19. Shaw, S.1994. Leukocyte Differentiation Antigen Database [database]. Version 1.11 [5th International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens. Available from Stephen Shaw, National Institutes of Health, on disk; NIH ftp site (balrog.nci.nih.gov), Bethesda, MD].
20. Reinherz EL, Hussey RE, Fitzgerald K, Snow P, Terhorst C and Schlossman SF. 1981. Antibody directed at a surface structure inhibits cytolytic but not suppressor function of human T lymphocytes. Nature 294:168-170.
21. Caligiuri M, Murray C, Buchwald D, Levine H, Cheney P, Peterson D, Komaroff AL and Ritz J. 1987. Phenotypic and functional deficiency of natural killer cells in patients with chronic fatigue syndrome. J Immunol. 139:3306-3313.
22. Benjamini E and Leskowitz S. Immunology: A Short Course. Second Edition. 1991. New York: Wiley-Liss, pp. 211-244.
23. Reinherz EL, O'Brien C, Rosenthal P and Schlossman SF. 1980. The cellular basis for viral-induced immunodeficiency: Analysis by monoclonal antibodies. J Immunol 125:1269-1274.
24. Felsenstein D, Carney WP, Iacoviello VR and Hirsch MS. 1985. Phenotypic properties of atypical lymphocytes in cytomegalovirus-induced mononucleosis. J Infect Dis 152:198-203.
25. Rinaldo CR, Ho M, Hamoudi WH, Gui X and DeBiasio RL. 1983. Lymphocyte subsets and natural killer cell responses during cytomegalovirus mononucleosis. Infect Immun 40:472-477.
26. Goldstein G, Lifter J and Mittler R. Immunoregulatory changes in human disease detected by monoclonal antibodies to T lymphocytes. In: Monoclonal Antibodies in Clinical Medicine. McMichael AJ and Fabre JW, eds. 1982. New York, NY: Academic Press, pp. 39-70.
27. Pedrazzini A, Freedman AS, Andersen J, Heflin L, Anderson K, Takvorian T, Canellos GP, Whitman J, Coral F, Ritz J and Nadler LM. 1989. Anti-B cell monoclonal antibody purged autologous bone marrow transplantation for B-cell non-Hodgkin's lymphoma: Phenotypic reconstitution and B-cell function. Blood 74:2203-2211.
28. Preijers FWMB, DeWitte T, Wessels JMC, DeGast GC, Van Leeuwen E, Capel PJA and Haanen C. 1989. Autologous transplantation of bone marrow purged in vitro with anti-CD7-(WTI-) Ricin A Immunotoxin in T-cell lymphoblastic leukemia and lymphoma. Blood 74:1152-1158.
29. Ramos EL, Turka LA, Leggat JE, Wood IG, Milford EL and Carpenter CB. 1989. Decrease in phenotypically defined T helper inducer cells (T4+4B4+) and increase in T suppressor effector cells (T8+2H4+) in stable renal allograft recipients. Transplantation 47:465-471.
30. Fauci AS. 1988. The human deficiency virus: Infectivity and mechanism of pathogenesis. Science 239:617-622.
31. Taylor MGJ, Fahey JL, Detels R and Giorgi JV. 1989. CD4 percentage, CD4 number and CD4:CD8 ratio in HIV infection: How to choose and how to use. J AIDS 2:114-124.
32. Beverley PCL and Callard RE. 1981. Distinctive functional characteristics of human T lymphocytes defined by E rosetting or a monoclonal anti-T cells antibody. Eur J Immunol 11:329-334.
33. Reinherz EL, Kung, PC, Goldstein G and Schlossman SF.1979. A monoclonal antibody with selective reactivity with functionally mature human thymocytes and all peripheral human T cells. J Immunol 123:1312-1317.
34. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, Approved Edition (H3). Clinical and Laboratory Standards Institute.
35. Loken MR, Brosnan JM, Bach BA and Ault KA. 1990. Establishing optimal lymphocyte gates for immunophenotyping by flow cytometry. Cytometry 11:453-459.
36. Gebel HM, Lebeck LL, Jensik SC, Landay AL and Bray RA. 1989. Discordant expression of CD3 and T-cell receptor antigens on lymphocytes from patients treated with OKT3. Transplantation Proceedings 1:1745-1746.
37. Tunnacliffe A, Olsson C, Traunecker A, Krissensen GW, Karjalainen K and De Le Hera A. The majority of CD3 epitopes are conferred by the epsilon chain. In Leukocyte Typing IV, White Cell Differentiation Antigens. Knapp W, Dorken B, Gilks WR, Rieber EP, Schmidt RE, Stein H and Kr. von dem Borne AEG, eds. 1989. Oxford: Oxford University Press, pp. 295-296.
38. Schroeder TI and Chatenoud L: Immunological monitoring during treatment with OKT3. Presented under the auspices of the American Society of Transplant Surgeons.
39. Koepke JA and Landay AL. 1989. Precision and accuracy of absolute lymphocyte counts. Clin Immunol Immunopathol 52:19-27.

ФОРМА ПОСТАВКИ ПРОДУКТА

CYTO-STAT triCHROME CD8-FITC/CD4-RD1/CD3-PC5
Ч.№ 6607053 – 50 тестов (0,5 mL)

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

Beckman Coulter logo, COULTER, COULTER CLONE, CYTO-COMP, CYTO-STAT, CYTO-TROL, EPICS, Flow-Count, IMMUNOPREP, MULTI-Q-PREP, Q-PREP, triCHROME, TQ-Prep, XL и XL-MCL являются товарными знаками Beckman Coulter, Inc.

RD1 продается по патентной лицензии 4.520.110.
PC5 продается по патентной лицензии 4.520.110 и 4.542.104.
Cy5 продается по патентной лицензии 4.981.977 и 5.268.486.

За дополнительной информацией или при получении повреждённой продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-526-7694 (в США или Канаде) или свяжитесь с вашим местным представителем компании Beckman Coulter.

Beckman Coulter, Inc.
250 S. Kraemer Blvd.
Brea, CA 92821
www.beckmancoulter.com

EC REP

Beckman Coulter Ireland Inc.
Mervue Business Park,
Mervue, Galway,
Ireland (353 91 774068)

Printed in USA
Made in USA

© 2010 Beckman Coulter, Inc.
Все права защищены.