

Reactivo de detección de CAR T-Cell BCMA

PE Proteína humana BCMA



REF	Σ		
BCMA-0312-25T	25 test	PE	RUO
BCMA-0312-100T	100 test	PE	

1. USO PREVISTO

Identificación y cuantificación de células T CAR BCMA mediante citometría de flujo.

2. DESCRIPCIÓN

Fuente: proteína BCMA humana (20-291), etiqueta Fc, expresada a partir de células humanas 293 (HEK) y posteriormente conjugada con fluorocromo mediante una tecnología patentada (BrightStep). MW: 34,6 kDa. **Purificación:** cromatografía de afinidad. **Composición:** proteína BCMA humana conjugada en una solución acuosa que contiene una proteína estabilizadora y azida sódica al 0,09 % (NaN3). **Uso recomendado:** el uso recomendado de este reactivo es de 5 µl para volúmenes de muestra de entre 100 µl (protocolo FACS). Recomendamos la titulación del reactivo para otros protocolos, como el protocolo de lisis masiva.

Acceso a la proteína:	BCMA MetI Ala54	Fc (Pro 100 - Lys 330)
	Q02223	P01857

3. CAMPO DE APLICACIÓN

Los reactivos para citometría de flujo desempeñan un papel crucial en la monitorización y evaluación de la eficacia de las terapias con células T CAR (terapias con células T con receptores de antígenos quiméricos). Estas terapias representan un enfoque revolucionario en el tratamiento del cáncer, en el que las células T del paciente se modifican genéticamente para reconocer y atacar específicamente las células cancerosas. Sin embargo, para garantizar el éxito de estas terapias, es fundamental monitorizar de cerca la persistencia y la actividad de las células T CAR en el organismo del paciente.

Los reactivos utilizados en la citometría de flujo son esenciales en este proceso. Su capacidad para proporcionar una identificación y cuantificación precisas de las células T CAR en muestras de sangre u otros tejidos, así como para evaluar su viabilidad y función. Esto es fundamental para determinar si las células T CAR persisten en el organismo del paciente en niveles suficientes para combatir eficazmente el cáncer y si mantienen su capacidad para reconocer y destruir las células cancerosas. La célula T CAR BCMA de Immunostep es un reactivo basado en antígenos que consiste en el dominio extracelular BCMA humano (1-54) conjugado con fluorocromo mediante una tecnología patentada (BrightStep™) que mejora la detección de las células T CAR.

4. PRINCIPIO DE LA METODOLOGÍA

El reactivo CAR T BCMA de Immunostep se ha desarrollado para la detección de células T transducidas que han sido diseñadas para expresar el receptor de antígeno quimérico (CAR) específico de BCMA en la superficie celular mediante un protocolo de citometría de flujo por inmunofluorescencia directa.

5. CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Conservar refrigerado entre +2 y +8 °C. NO CONGELAR. El kit sin abrir es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el vial. No utilizar después de esta fecha. Una vez abierto, los reactivos son estables si se conservan a una temperatura de entre +2 y +8 °C, protegidos de la luz y de la contaminación.

6. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Solución salina tamponada (PBS) con azida sódica al 0,09 %. Se recomienda añadir BSA al 0,2 %.
- Solución lisante. (Ref. RBCIOX-50M), solución concentrada 10X que contiene cloruro de amonio (NH₄ Cl). Para su uso, diluir la solución concentrada RBC Lysis
- Solution (1:10) (5 ml de RBC Lysis Solution 10X + 45 ml de agua destilada).
- Panel de anticuerpos para la identificación de células T CAR:

DESCRIPCIÓN DEL PRODUCTO	REF
OC515 Anti-CD45 humano FITC	45OC2-100T
Anti-CD3 humano	3FI-100T
PerCP-Cy5.5 Anti-CD4 humano APC	4PP-100T
CD8	8A1-100T
PE-Cianina7 Anti-CD45RA	45RAPC7-100T

Tabla 1: Anticuerpos que pueden utilizarse para la evaluación de las células CAR-T en la sangre periférica (recomendación opcional).

7. RECOMENDACIONES Y ADVERTENCIAS

- ⚠ Debe evitarse la tinción conjunta con anticuerpos anti-BCMA humanos, ya que el reactivo de detección de células T CAR BCMA también puede ser reconocido por los anticuerpos BCMA.
- ⚠ Antes de obtener muestras, es necesario asegurarse de que los ajustes del citómetro de flujo y su compensación sean adecuados.
- ⚠ Los reactivos contienen azida sódica. En condiciones ácidas, se transforma en ácido hidrazoico, un compuesto altamente tóxico. Los compuestos de azida deben disolverse con agua del grifo antes de su eliminación. Se recomiendan estas condiciones para evitar depósitos en las tuberías. Ficha de datos de seguridad (MSDS) disponible en el sitio web www.immunostep.com.
- ⚠ Mantenga los componentes del kit alejados de la exposición directa a la luz durante el protocolo. Fluorescentes Los reactivos conjugados son sensibles a la luz.
- ⚠ Utilice equipo de protección personal para manipular las muestras. Lávese las manos adecuadamente después de la manipulación de muestras. Todos los procedimientos deben realizarse de acuerdo con las normas de seguridad aprobadas.

8. RECOGIDA DE MUESTRAS

La extracción de muestras de sangre debe realizarse en tubos de extracción de sangre utilizando el anticoagulante adecuado (EDTA o heparina). Para obtener resultados óptimos, la muestra debe procesarse durante las seis horas siguientes a la extracción. Se recomienda desechar las muestras que no puedan procesarse en las 48 horas siguientes a la extracción.

9. PROTOCOLO

9.1 Protocolo de lisis FACS

Protocolo para la tinción inmunofluorescente. El protocolo puede llevarse a cabo en un tubo citométrico (12 x 75 mm) (ANEXO I):

1. Prepare una mezcla de tinción que contenga el volumen indicado en el vial del reactivo BCMA CAR T-Cell (BCMA) y anticuerpos conjugados adicionales. Véanse los ejemplos de la tabla 1. Para más detalles, consulte las respectivas fichas técnicas.
2. Añada 100 µl de muestra (hasta 10⁶ células) y mezcle adecuadamente en el vórtex.
3. Incubar en la oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente (20-25 °C) o durante 60 minutos a 4 °C.
4. Añada 2 ml de la solución de lisis, mezcle en el vórtex e incube en la oscuridad durante 10-15 minutos.
5. Centrifugar a 540 g durante 5 minutos y retirar con cuidado el sobrenadante mediante succión, sin tocar el sedimento celular. Dejar 50 µl de líquido sin aspirar para facilitar la resuspensión del sedimento.
6. Añada 2 ml de PBS (consulte los materiales necesarios pero no proporcionados).
7. Centrifugar a 540 g durante 5 minutos y retirar con cuidado el sobrenadante por succión, sin tocar el sedimento celular. Dejar 50 µl de líquido no aspirado.
8. Resuspender el sedimento en 0,3 ml de PBS.
9. Adquirir en un citómetro de flujo o almacenar en la oscuridad a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C hasta que se realice el análisis. Las muestras deben adquirirse en el plazo de una hora tras la lisis.

10. ESTRATEGIA DE ADQUISICIÓN Y ANÁLISIS DE ENSAYOS CITOMÉTRICOS

En la citometría de flujo multicolor es esencial corregir el desbordamiento de fluorescencia. Cada laboratorio debe establecer sus propios procedimientos para verificar que la compensación sea adecuada para su panel de anticuerpos.

10.1 Estrategia para el análisis de muestras

Se recomienda como primer paso seleccionar la población de células nucleadas en el patrón FSC-H/FSC-A para eliminar los restos residuales y reducir el fondo, seguido de la selección de la población de células nucleadas en el diagrama de puntos SSC-A/FSC-A para eliminar los dobletes, lo que permite la identificación correcta de la población de linfocitos (A). En un diagrama de puntos para la siguiente selección de CD45/CD3 (B), para la selección de la población de linfocitos T.

Por último, en un diagrama de puntos para el marcador de células T CAR (reactivo BCMA CAR T-Cell), para la selección de células T CAR. En este diagrama de puntos, CD45RA solo se utiliza para definir con mayor precisión la selección de la población de células T CAR.

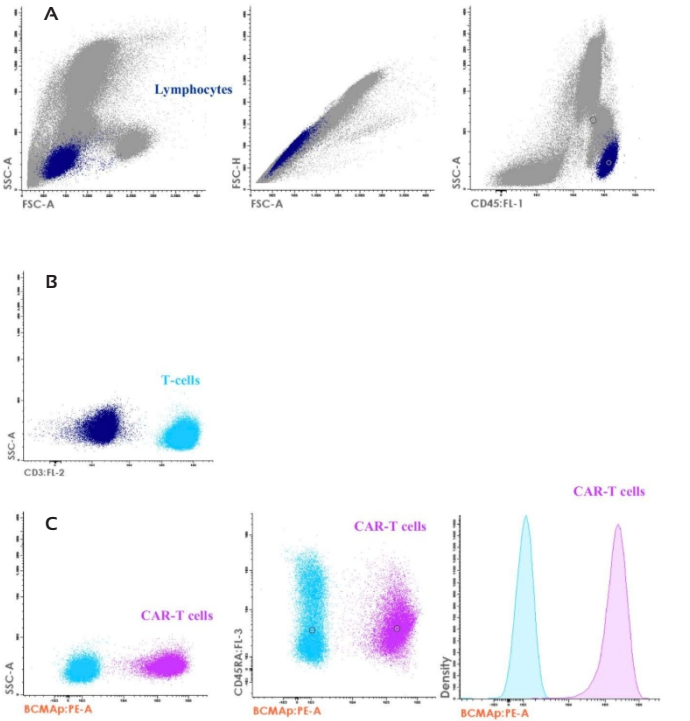


Figura 1: Estrategia de análisis para la selección de la población de células T CAR en los diagramas de puntos FSC-H/FSC-A (A); SSC o CD45/CD3 (B) y BCMA (C).

11. GARANTÍA

Solo se garantiza que se ajusta a la cantidad y el contenido indicados en la etiqueta o en el etiquetado del producto en el momento de la entrega al cliente. Immunostep renuncia por la presente a otras garantías.

La única responsabilidad de Immunostep se limita a la sustitución de los productos o al reembolso del precio de compra.

12. INFORMACIÓN ADICIONAL

Solo para uso en investigación. No apto para uso diagnóstico. No apto para la reventa. Immunostep no se hace responsable de las infracciones que puedan producirse con el uso de este producto. Queda estrictamente prohibido cualquier uso de este producto que no sea el especificado en este documento.

A menos que Immunostep indique lo contrario mediante autorización por escrito, este producto está destinado exclusivamente a la investigación y no debe utilizarse para ningún otro fin, incluidos, entre otros, fines diagnósticos, terapéuticos o comerciales en seres humanos o animales.

Para obtener más información, consulte el servicio de asistencia técnica de www.immunostep.com.

13. EXPLICACIÓN DE LOS SÍMBOLOS

	Fluorocromo
	Referencia del producto
	Contenido para análisis <n>
	Estado normativo
	Solo para uso en investigación
	Fecha de caducidad
	Código de lote
	Siga las instrucciones de uso
	Conservación entre x °C y y °C
	Preste atención
	Contenido de cada prueba
	Fabricante

14. DATOS DEL FABRICANTE



IMMUNOSTEP S.L.

Dirección: Avda. Universidad de Coimbra, s/n Centro de Investigación Oncológica (C.I.C) Campus de Unamuno 37007 Salamanca (España)

Telf./fax: (+34) 923 294 827

Correo electrónico: info@immunostep.com

www.immunostep.com

ANEXO I.

Protocolo para la tinción inmunofluorescente

