

CD11 - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (EP157)

Rabbit anti-human CD11c (Integrin Alpha-X) Monoclonal Antibody (Clone EP157)

Código	EP-12-50443	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP157 ³
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Peptídeo sintético correspondente aos resíduos da proteína CD11c / ITGAX humana.
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Amígdala ou leucemia de células pilosas.
• Marcação	:	Citoplasma e membrana celular

Aplicações conhecidas

Em Imuno-histoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina. Não testado em tecidos congelados e técnicas de western-blotting.

Especificações:

O CD11c (ITGAX), um membro da família das leucodegrinas, compartilha a mesma subunidade beta com outros membros da família de moléculas de adesão de leucócitos, que inclui CD11a (LFA-1), CD11b (MAC-1) e CD11d (ITGAD), mas uma cadeia alfa única. Demonstrou-se que o CD11c desempenha um papel na fagocitose, migração celular e produção de citocinas por monócitos / macrófagos, bem como indução da proliferação de células T pelas células de Langerhans. O CD11c é expresso de forma proeminente nas membranas plasmáticas dos monócitos, macrófagos teciduais, células NK e na maioria das células dendríticas (Dcs). Um nível mais baixo de expressão também é observado em neutrófilos como resultado de seu alto nível de expressão na maioria das Dcs. Um anticorpo para CD11c pode auxiliar na identificação de lesões com origem histiocítica. Também pode ter sido usado como um marcador para leucemia de células pilosas em tecidos embebidos em parafina.

Armazenagem e estabilidade:

Armazenar entre 2°C e 8°C, porém o uso é feito em temperatura ambiente.

Conteúdo:

1. Ver frasco.

Notas técnicas importantes:

1. Evitar contato dos reagentes com os olhos e membranas mucosas. Caso os reagentes entrem em contato com áreas sensíveis lavar abundantemente com água.
2. Esse produto é prejudicial se ingerido.
3. Consulte as autoridades locais ou estaduais com relação ao método recomendado de descarte
4. Evitar a contaminação microbiana dos reagentes
5. Recomendado para uso em pesquisa (RUO)

Notas do protocolo:

A diluição ideal do anticorpo e protocolos para uma aplicação específica podem variar. Devido à sensibilidade superior destes reagentes exclusivos, os tempos de incubação recomendados não são aplicáveis a outros sistemas de detecção, pois os resultados podem variar. Os protocolos ideais para uma aplicação específica podem variar. Esses incluem, mas não estão limitados à fixação, método de recuperação de calor, tempos de incubação, diluição de anticorpos, espessura da secção de tecido. As recomendações e protocolos da literatura são baseados em uso exclusivo de produtos EasyPath. Em última análise, é responsabilidade do pesquisador para determinar as condições ideais. Este produto é apenas para uso profissional. A imuno-histoquímica é um processo de diagnóstico de múltiplas etapas que consiste em treinamento especializado na seleção dos reagentes apropriados, seleção de tecidos, fixação e em processamento, preparação da lâmina IHC e interpretação do resultado de coloração. A utilização em tecido congelado não foi validado.

Protocolo:

- 1 - Desparafinação - Estufa 60-65 °C por 3 horas, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada
- 2 - Recuperação antigênica - Colocar 600ml de água destilada na câmara pressurizada (Muscae Plus/EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath), tampar a câmara e deixar 15 minutos em 110 °C, conforme pré-programado, esfriar em temperatura ambiente por 20 minutos no próprio tampão.
- 3 - Bloqueador de Peroxidase EasyPath por 5 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 4 - Anticorpo primário (Biocare ou EasyPath) por 30-60 minutos (Conforme padronização do laboratório), lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 5 - Amplificador do anticorpo EasyPath por 15 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 6 - Polímero PolyFusion-HRP EasyPath por 30 minutos, lavar com TBS e em seguida secar a lâmina com papel macio. Nota: O polímero é sensível à luz. Evitar a exposição desnecessária.
- 7 - Preparar o DAB EasyPath com 15 minutos de antecedência (Proporção: 1ml de DAB Substrato para 1 gota de DAB Cromógeno).
- 8 - DAB EasyPath por 5 minutos, lavar com TBS, depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 9 - Potencializador do DAB EasyPath (etapa não obrigatória) por 2 minutos, lavar com TBS, depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 10 - Hematoxilina EasyPath por 1 minuto e lavar em água corrente por 1 minuto.
- 11 - Bateria de álcool e xilol.
- 12 - Montar a(s) lâmina(s).

INSTRUÇÕES GERAIS

Para a obtenção de um melhor resultado da metodologia e uma completa compreensão da terminologia utilizada, nós recomendamos as seguintes indicações:

Número de testes realizados *

O número mínimo de testes é calculado com 100µl gotas de reagente, aconselhamos seguir esta quantidade de reagentes. Em casos de seções pequenas, no entanto, pode-se utilizar menos.

Tempo de execução

O tempo de execução foi calculado somando-se a duração de todas as etapas do método. Ele não inclui o tempo de desparafinar, hidratar e desidratar o corte.

Coloração final

A metodologia foi padronizada a uma temperatura média de 20°C e em condições normais de trabalho, utilizando-se os produtos indicados nesta literatura. Pode ocorrer uma pequena variação na coloração final, devido principalmente a variação da temperatura, ocorrendo esta variação, deve-se alterar o tempo utilizado em cada reagente, com o objetivo de intensificar ou diminuir a coloração.

Validade

Indica o tempo em que produto permanece inalterado a partir de sua fabricação, se armazenado adequadamente. Cada produto possui uma etiqueta com identificação do lote e data de vencimento.

Equipamento básico

Bandeja de incubação comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

Câmara pressurizada Muscae Plus (EasyPath) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.

Dois séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCENDENTE: para desparafinar e levar os cortes das seções para água destilada, composta de: xilol (x2), etanol absoluto (x2), etanol a 96%, etanol a 70% e água destilada.
- ASCENDENTE: para desidratar e limpar, composta de: etanol a 70%, etanol a 96%, etanol absoluto (x2) e xilol (x2).

Aconselhamos o uso do meio de montagem ERV-MOUNT, comercializado pela Grupo Erviegas código EP-51-05042 frasco com 500ml e EP-51-05041 frasco com 100ml.

Equipamento complementar

Podem-se ser utilizadas micropipetas para reduzir a quantidade de reagentes utilizados durante o processo, bem como outros sistemas de recuperação antigênica como micro-ondas, panela de pressão, banho maria ou sistema automatizados para imuno-histoquímica como IntelliPATH (Biocare).

Fixação e meios de inclusão

Os tempos dos métodos foram determinados a partir de cortes histológicos de fragmentos fixados em formol tamponado com pH 7 com tampão fosfato e inclusos em parafina, pelo tempo mínimo de fixação (Recomendado – Histofix, fixador EasyPath). A utilização de outros fixados nas práticas histológicas comuns (piocromoformol de Bouin, B5), temperatura do processamento, inclusão e desparafinação podem interferir na metodologia e tempos de incubações.

Garantia Grupo Erviegas

O Grupo Erviegas garante o funcionamento do produto conforme especificado nesta literatura. Para mais informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site www.grupoerviegas.com.br.

Refêrências Bibliográficas

1. Corbi AL, Larson RS, Kishimoto TK, Springer TA, Morton CC. Chromosomal location of the genes encoding the leukocyte adhesion receptors LFA-1, Mac-1 and p150,95. Identification of a gene cluster involved in cell adhesion. *J Exp Med*. 1988 May 1;167(5):1597-607
2. Miller ML, Fishleder AJ, Tubbs RR. The expression of CD22 (Leu 14) and CD11c (LeuM5) in chronic lymphoproliferative disorders using two-color flow cytometric analysis. *Am J Clin Pathol*. 1991 Jul;96(1):100-8
3. Paulli M, Rosso R, Kindl S, Boveri E, Marocolo D, Chioda C, Agostini C, Magrini U, Facchetti F. Immunophenotypic characterization of the cell infiltrate in five cases of sinus histiocytosis with massive lymphadenopathy (Rosai-Dorfman disease). *Hum Pathol*. 1992 Jun;23(6):647-54
4. Tworek JA, Singleton TP, Schnitzer B, Hsi ED, Ross CW. Flow cytometric and immunohistochemical analysis of small lymphocytic lymphoma, mantle cell lymphoma, and plasmacytoid small lymphocytic lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 1998 Nov;110(5):582-9
5. Vardiman JW, Gilewski TA, Ratain MJ, Bitter MA, Bradlow BA, Golomb HM. Evaluation of Leu-M5 (CD11c) in hairy cell leukemia by the alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase technique. *Am J Clin Pathol*. 1988 Sep;90(3):250-6
6. Beitnes AC, Ráki M, Brottveit M, Lundin KE, Jahnsen FL, Sollid LM. Rapid accumulation of CD14+CD11c+ dendritic cells in gut mucosa of celiac disease after in vivo gluten challenge. *PLoS One*. 2012;7(3):e33556
7. Beitnes AC, Ráki M, Lundin KE, Jahnsen J, Sollid LM, Jahnsen FL. Density of CD163+ CD11c+ dendritic cells increases and CD103+ dendritic cells decreases in the coeliac lesion. *Scand J Immunol*. 2011 Aug;74(2):186-94
8. Ráki M, Tollefsen S, Molberg Ø, Lundin KE, Sollid LM, Jahnsen FL. A unique dendritic cell subset accumulates in the celiac lesion and efficiently activates gluten-reactive T cells. *Gastroenterology*. 2006 Aug;131(2):428-38.