

## CD123- Cadeia alfa do receptor da interleucina-3 - Anticorpo Monoclonal anti-humano

Mouse anti-human CD123 (Interleukin-3 Receptor Alpha Chain) Monoclonal - Antibody (Clone 7G3)

Código	EP-12-50453	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	7G3
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG2/k
• Imunógeno	:	Células Transfectadas com IL-3Ra Humana
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Amígdala
• 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 anticorpo monoclonal 7G3 reage especificamente com o CD123 humano, a cadeia de receptor de IL-3 de 70 kDa (IL-3Ra). O CD123 associa-se ao CD131, a cadeia comum de 120-140 kDa para formar o Complexo Receptor de IL-3. O CD131 é partilhado com os receptores para as interleucinas IL-5 e GM-CSF. A IL-3R $\alpha$  é expressa em progenitores hematopoiéticos e desempenha um papel importante no crescimento e diferenciação de células progenitoras hematopoiéticas. Também é expresso por mastócitos, macrófagos e um subconjunto de células CD5 + B. Foi referido que este anticorpo bloqueia a ligação de 125I-IL-3 a receptores de IL-3 de alta e baixa afinidade. Em experiências funcionais, verificou-se que este anticorpo inibia a proliferação de células de leucemia mielóide aguda, libertação de histamina de basílos, secreção de IL-8 mediada por células endoteliais e transmigração de neutrílos. O anticorpo é útil em secções de parafina para identificar células dendríticas plasmocitoides, uma linhagem distinta de células dendríticas que são consideradas como causadoras da neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (CD4 + / CD56 + / CD123 +) e leucemia aguda de linhagem ambígua (CD4 + / CD56- / CD123 +). Células dendríticas plasmocitoides (CD123 +) podem ser encontradas em grupos em casos vocacionais de sarcoma mielóide e em leucemia mielomonocítica crônica, como nas lesões de pele de lúpus sistêmico.

### 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 IHQ e interpretação do resultado de coloração. A utilização em tecido congelado não foi validado.

**Protocolo:**

- 1 - Desparafinização - 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 (MuscaePlus/ 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 desparafinizar, 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 horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

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

Dois séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCENDENTE: para desparafinizar 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](http://www.grupoerviegas.com.br).

### Referências Bibliográficas

1. Uckun FM, Gesner TG, Song CW, Myers DE, Mufson A. Leukemic B-cell precursors express functional receptors for human interleukin-3. *Blood*; 73: 533-542. 1989.
2. Kremer E, Baker E, D'Andrea RJ, Slim R, Phillips H, Moretti PA, et al. A cytokine receptor gene cluster in the X-Y pseudoautosomal region? *Blood*; 82:22-28. 1993.
3. Hart D. Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood*; 90: 3245-87. 1997.
4. Vandenabeele S, Wu L. Dendritic cell origins: puzzles and paradoxes. *Immunol Cell Biol*; 77: 411-9. 1999.
5. Zhou M, Gu L, Holden J, Yeager AM, Findley HW. CD40 ligand upregulates expression of the IL-3 receptor and stimulates proliferation of B-lineage acute lymphoblastic leukemia cells in the presence of IL-3. *Leukemia*; 14: 403-411. 2000.
6. Brière F, Bendriss-Vermare N, Delale T, Burg S, Corbet C, Risoan M. Origin and filiation of human plasmacytoid dendritic cells. *Hum Immunol*; 63: 1081-93. 2002.
7. Lhermitte L, de LA, Dupret C, Lapillonne H, Millien C, Landman-Parker J, et al. Most immature TALLs express Ra-IL3 (CD123): possible target for DT-IL3 therapy. *Leukemia*; 20: 1908-1910. 2006.
8. Swerdlow SH, Campos E, Harris NL, Jaffe ES, Harris NL, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW. World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.
9. Djokic M, Björklund E, Blennow E, Mazur J, Söderhäll S, Porwit A. Overexpression of CD123 correlates with the hyperdiploid genotype in acute lymphoblastic leukaemia. *haematologica*; 94(7): 1016-1019. 2009.