

CD27 - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (EPR 8569)

Rabbit anti-human CD27 Monoclonal Antibody (Clone EPR8569)

Código	EP-12-50583	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EPR8569
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Proteína recombinante correspondente a 200 aminoácidos da região terminal do CD27 humano.
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção de tecidos da amígdala
• Marcação	:	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 CD27 é uma proteína transmembrana glicosilada do tipo I de 50-55 kDa de peso molecular pertencente à Superfamília dos receptores de TNF (TNFRSF7), a partir da qual constitui o seu sétimo membro. Esta proteína também é conhecida como antígeno de ativação de linfócitos T, proteína S152 e proteína T14. É codificado por um gene localizado na região cromossômica 12p13.31. Como membro da família do fator de necrose tumoral (TNF), o CD27 desempenha um papel importante no crescimento celular e na diferenciação celular, bem como na regulação da apoptose. No primeiro caso, o CD27 se liga ao CD70, seu ligante, e desempenha um papel importante na co-estimulação da ativação das células T e na regulação da diferenciação e proliferação de células B e da síntese de imunoglobulinas. Os domínios citoplasmáticos de CD27 também demonstraram interagir com TRAF2 e TRAF5 para suportar a ativação de NF-kappa B e SAPK / JNK. Seu papel na apoptose está relacionado à sua capacidade de se ligar à proteína pró-apoptótica SIVA. Portanto, o CD27 desempenha um papel importante na indução da morte celular programada. O CD27 é expresso nos timócitos medulares, quase todas as células T maduras, células B de memória, células NK e parte dos plasmócitos normais, mas não nas células B virgens nem nas células T efectoras. Em pacientes que foram diagnosticados com leucemia linfoblástica aguda (LLA), a superexpressão de CD27 está associada a um prognóstico mais favorável e a um aumento da resposta imune antileucêmica. Por meio de técnicas imunohistoquímicas, confirmou-se a expressão do antígeno CD27 em casos isolados de linfoma de células do manto, linfoma de Burkitt, linfoma de zona marginal e plasmocitoma. Nos casos de mieloma múltiplo, a expressão de CD27 aparentemente tem um valor preditivo na sobrevida dos pacientes, com 92% de sobrevida global após três anos em casos positivos, em comparação com 50% dos casos negativos. A negatividade do CD27 na leucemia de células pilosas do baço tem sido sugerida como uma ferramenta útil no diagnóstico diferencial com outros tipos de leucemias de células B.

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 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 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 desparafinização 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.

Referências Bibliográficas

1. Baens M, Aerssens J, van Zand K, Van den Berghe H, Marynen P. Isolation and regional assignment of human chromosome 12p cDNAs. *Genomics*. 1995 Sep 1;29(1):44-52
2. Carr JM, Carrasco MJ, Thaventhiran JE, Bambrough PJ, Kraman M, Edwards AD, Al-Shamkhani A, Fearon DT. CD27 mediates interleukin-2-independent clonal expansion of the CD8+ T cell without effector differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Dec 19;103(51):19454-9
3. Prasad KV, Ao Z, Yoon Y, Wu MX, Rizk M, Jacquot S, Schlossman SF. CD27, a member of the tumor necrosis factor receptor family, induces apoptosis and binds to Siva, a proapoptotic protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Jun 10;94(12):6346-51
4. Gruss HJ, Dower SK. Tumor necrosis factor ligand superfamily: involvement in the pathology of malignant lymphomas. *Blood*. 1995 Jun 15;85(12):3378-404
5. Jacquot S. CD27/CD70 interactions regulate T dependent B cell differentiation. *Immunol Res*. 2000;21(1):23-30
6. Kamazani FM, Bahoush GR, Aghaeipour M, Vaeli S, Amirghofran Z. CD44 and CD27 expression pattern in B cell precursor acute lymphoblastic leukemia and its clinical significance. *Med Oncol*. 2013 Mar;30(1):359
7. Dong HY, Shahsafaei A, Dorfman DM. CD148 and CD27 are expressed in B cell lymphomas derived from both memory and naïve B cells. *Leuk Lymphoma*. 2002 Sep;43(9):1855-8
8. Moreau P, Robillard N, Jégo G, Pellat C, Le Gouill S, Thoumi S, Avet-Loiseau H, Harousseau JL, Bataille R. Lack of CD27 in myeloma delineates different presentation and outcome. *Br J Haematol*. 2006 Jan;132(2):168-70
9. Forconi F, Raspadori D, Lenoci M, Lauria F. Absence of surface CD27 distinguishes hairy cell leukemia from other leukemic B-cell malignancies. *Haematologica*. 2005 Feb;90(2):266-8
10. Hashimoto Y, Tsukamoto N, Nakahashi H, Yokohama A, Saitoh T, Handa H, Matsushima T, Murakami H, Nojima Y, Karasawa M. Hairy cell leukemia-related disorders consistently show low CD27 expression. *Pathol Oncol Res*. 2009 Dec;15(4):615-21.