

CD5 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP77)

Rabbit anti-human CD5 Monoclonal Antibody (Clone EP77)

Código	EP-12-50763	1ml	Concentrado
	EP-12-50761	0,1ml	Concentrado
	EP-12-50764	1ml	Pronto para uso
	EP-12-50766	6ml	Pronto para uso

- Diluição recomendada : 1:50
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : EP77
- Isotipo Ig : Coelho IgG
- Imunógeno : Um péptido sintético correspondente a resíduos na proteína CD5 humana.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Amígdalas
- Marcação : Membrana Citoplasmática

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 CD5 (antígeno linfocitário T1 / Leu-1) é uma glicoproteína transmembrana que foi implicado como um receptor na regulação da proliferação de células T. O anticorpo CD5 rotula uma variedade de linfócitos T, linfócitos da zona do manto e um pequeno subconjunto de linfócitos B. Em tumores, o CD5 expresso em malignidades de células T, leucemia linfocítica crônica de células B (CLL) / linfoma linfocítico pequeno (SLL) e linfoma de células do manto. Como o CD5 é expresso em linfócitos T ativados e em várias leucemias de células T, deve ser incluído no painel de estudo imunofenotípico de linfomas de células T, pois é positivo na micose fungóide e é deletado na maioria dos linfomas anaplásicos de células T (ALK), papulose linfomatóide e linfomas NK / T blastóides. Além disso, o anti-CD5 é útil no diagnóstico do carcinoma tímico (CD5 positivo).

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 - 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 pH6 (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 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 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. Jones N H, Clabby M L, Dialynas D P, et al. Isolation of complementary DNA clones encoding the human lymphocyte glycoprotein T1/Leu-1. *Nature*; 323: 346-349. 1986.
2. Kasaian M T, Ikematsu H, and Casali P. CD5 + B Lymphocytes (43250). *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*; 197: 226-241. 1991.
3. Diaz de Leon E, Alkan S, Huang J C, et al. Usefulness of an immunohistochemical panel in paraffin-embedded tissues for the differentiation of B-cell non Hodgkin's lymphomas of small lymphocytes. *Modern Pathology*; 11(11): 1046-1051. 1998.
4. Izban K F, Hsi E D, Alkan S. Immunohistochemical analysis of mycosis fungoides on paraffin-embedded tissue sections. *Modern Pathology*; 11(10): 978-982. 1998.
5. Kuo T T and Chan J K. Thymic carcinoma arising in thymoma is associated with alterations in immunohistochemical profile. *American Journal of Surgical Pathology*; 22(12): 1474-1481. 1998.
6. Tateyama H, Eimoto T, Tada T, Hattori H, Murase T, Takino H. Immunoreactivity of a new CD5 antibody with normal epithelium and malignant tumors including thymic carcinoma. *American Journal of Clinical Pathology*; 111(2): 235-240. 1999.
7. Kong SY, Cho EH, WooHY, ParkQ, Ko YH, Kim SH. De novo CD5 positive diffuse large B-cell lymphomas with bone marrow involvement in Korean. *J Korean Med Sci*. 19(6): 815-819. 2004.
8. Rossi S, Laurino L, Furlanetto A, Chinellato S, Orvieto E, Canal F, Facchetti F, Dei Tos AP. Rabbit monoclonal antibodies: a comparative study between a novel category of immunoreagents and the corresponding mouse monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol*; 124(2): 295-302. 2005.
9. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman J.W. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition Lyon, 2008.
10. Jaso J, Chen L, Li S, Lin P, Chen W, Miranda RN, Konoplev S, Medeiros LJ, Yin CC. CD5-positive mucosa-associated lymphoid tissue (MALT) lymphoma: a clinicopathologic study of 14 cases. *Hum Pathol*. Mar 8. [Epub ahead of print]. 2012.

