TCR – Anticorpo monoclonal Anti-humano TCR beta – (Clone G-11)

Mouse anti-human TCR beta Monoclonal Antibody (Clone G-11)

Código **EP-12-53013** **1ml**

- Diluição recomendada : 1:50
- Validade e lote do produto : ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : G-11
- Isotipo Ig : Coelho IgG
- Imunógeno : Região constante humana do receptor de células T beta.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Amígdala
- Marcação : Citoplasma 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 receptor de antígeno de célula T (TCR) reconhece antígenos estranhos e traduz esses eventos de reconhecimento em sinais intracelulares que induzem uma mudança na célula de um estado dormente para um estado ativado. TCR é um heterodímero composto de cadeias α e β ou γ e δ. A grande maioria das células T circulantes (95%) expressa o heterodímero α / β, enquanto aproximadamente 2-5% expressam o heterodímero γ / δ.

As cadeias CD3 e os co-receptores CD4 ou CD8 são também necessários para uma transdução de sinal eficiente através do TCR. O TCR é expresso nas células T auxiliar e T citotóxicas que podem ser distinguidas pela expressão de CD4 e CD8.

Este anticorpo reconhece a região constante do receptor de células T beta (TCR beta), que é codificado pelo gene TCRB1 localizado na região cromossômica 7q34, que por sua vez, juntamente com os rearranjos das regiões V, D e J são necessários para a expressão do gene. Proteína beta TCR.

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 entrarem 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 ℃ por 3 horas, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada

Grupo Erviegas
Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07

2 - Recuperação antigênica - Colocar 600ml de água destilada na câmara pressurizada (MuscaePlus/ EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 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.
Duas 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).

Grupo Erviegas
Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07

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. Tunnacliffe A, Kefford R, Milstein C, Forster A, Rabbitts TH. Sequence and evolution of the human T-cell antigen receptor beta-chain genes. Proc Natl Acad Sci U S A. 1985 Aug;82(15):5068-72
2. Hillier LW, et all. The DNA sequence of human chromosome 7. Nature. 2003 Jul 10;424(6945):157-64
3. Vantourout P, Hayday A. Six-of-the-best: unique contributions of γδ T cells to immunology. Nat Rev Immunol. 2013 Feb;13(2):88-100.
4. Jaffe ES, Nicolae A, Pittaluga S. Peripheral T-cell and NK-cell lymphomas in the WHO classification: pearls and pitfalls. Mod Pathol. 2013 Jan;26 Suppl 1:S71-87.
5. Rodríguez-Pinilla SM, Ortiz-Romero PL, Monsalvez V, Tomás IE, Almagro M, Sevilla A, Camacho G, Longo MI, Pulpillo Á, Diaz-Pérez JA, Montes-Moreno S, Castro Y, Echevarría B, Trébol I, Gonzalez C, Sánchez L, Otín AP, Requena L, Rodríguez-Peralto JL, Cerroni L, Piris MÁ. TCR-γ expression in primary cutaneous T-cell lymphomas. Am J Surg Pathol. 2013 Mar;37(3):375-84
6. Wilson AL, Swerdlow SH, Przybylski GK, Surti U, Choi JK, Campo E, Trucco MM, Van Oss SB, Felgar RE. Intestinal γδ T-cell lymphomas are most frequently of type II enteropathy-associated T-cell type. Hum Pathol. 2013 Jun;44(6):1131-45
7. Garcia-Herrera A, Song JY, Chuang SS, Villamor N, Colomo L, Pittaluga S, Alvaro T, Rozman M, de Anda Gonzalez J, Arrunategui AM, Fernandez E, Gonzalvo E, Estrach T, Colomer D, Raffeld M, Gaulard P, Campo E, Jaffe ES, Martinez A. Nonhepatosplenic γδ T-cell lymphomas represent a spectrum of aggressive cytotoxic T-cell lymphomas with a mainly extranodal presentation. Am J Surg Pathol. 2011 Aug;35(8):1214-25

Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07