

BOB-1 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone SP92

Rabbit anti-human BOB-1 - Monoclonal Antibody (Clone SP92)

Código	EP-12-50193	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	SP92
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Polipéptido do terminal carboxilo, porção da proteína BOB-1 de origem humana.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Tecido da Amígdala
• Marcação	:	Nuclear e citoplasma com menos intensidade em algumas células.
•	:	

Aplicações conhecidas

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

Especificações:

A proteína BOB.1, OBF.1, OCA (atualmente denominada BOB.1 / OBF.1) de 35 kD é codificada por um gene localizado na região cromossômica 11q23.1. BOB.1 significa “proteína de ligação ao octâmero da célula B”, um coativador específico dos linfócitos B para os fatores de transcrição Oct-1 e Oct-2. O BOB.1 é responsável por aumentar a atividade de transcrição dessas proteínas. Os fatores de transcrição Oct1 e Oct2 pertencem à família “POU” de genes ‘homeobox’ que se ligam ao DNA em várias configurações monoméricas e diméricas. Dependendo da sequência de DNA com a qual o dímero se liga, eles estão alinhados em uma configuração acessível ou inacessíveis para a ação do cofator específico BOB.1 / OBF1). A interação do fator de transcrição Oct2 com o octâmero de nucleotídeos relacionados (ATGCAAAT) é fundamental e determinante para a expressão de genes de imunoglobulinas. Foi recentemente provado que a alteração na transcrição da imunoglobulina está correlacionada com a regulação descendente de Oct-2 e BOB. 1 / OBF. 1 fator de transcrição em linfócitos B. Nos tecidos linfoides normais, o BOB.1 é expresso principalmente nos núcleos dos linfócitos B no centro germinativo, com menor intensidade no manto folicular e dispersa em linfócitos B interfoliculares. Este anticorpo é útil na identificação de linfomas originários de linfócitos B. A intensidade variável da imunomarcagem foi demonstrada em doença de Hodgkin clássica sem encontrar relação estatística com os diferentes subtipos. OB1 em conjunto com marcadores pan-B (CD20 ou CD79a) são úteis para o diagnóstico diferencial entre linfoma de células grandes B, linfoma de Hodgkin predominante em linfócitos nodulares (OCT-2 + / BOB. 1 + / PAN-B +) e linfoma B anaplásico OCT-2- / BOB. 1- / PAN-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 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 seção de tecido As recomendações e protocolos da literatura são baseados em uso exclusivo de produtos EasyPath. Em última análise, é responsabilidade do investigador 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 (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 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 Muscae Plus (EasyPath) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.

Duas séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCEDENTE: 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. Scheidereit C, Cromlish JA, Gerster T, Kawakami K, Balmaceda C, Currie RA, Roeder RG. A human lymphoid-specific transcription factor that activates immunoglobulin genes is a homeobox protein. *Nature* 336: 551-557 (1988).
2. Strubin M, Newell JW, Matthias P. OBF-1, a novel B cell-specific coactivator that stimulates immunoglobulin promoter activity through association with octamer-binding proteins. *Cell* 80: 497-506 (1995).
3. Gstalger M, Knoepfel L, Georgiev O, Schaffner W, Hovens CM. A B cell coactivator of octamer-binding transcription factors. *Nature* 373: 360-362 (1995).
4. Tomilin, A, Remenyi A, Lins K, Bak H, Leidel S, Vriend G, Wilmanns M, Scholer HR. Synergism with the coactivator OBF-1 (OCA-B, BOB-1) is mediated by a specific POU dimer configuration. *Cell* 103: 853-864 (2000).
5. Laumen H, Nielsen PJ, Wirth T. The BOB.1 / OBF.1 co-activator is essential for octamer-dependent transcription in B cells. *Eur J Immunol.* 30:458-469 (2000).
6. Browne P, Petrosyan K, Hernandez A, Chan JA. The B-cell transcription factors BSAP, Oct-2, and BOB.1 and the pan-B-cell markers CD20, CD22, and CD79a are useful in the differential diagnosis of classic Hodgkin lymphoma. *Am J Clin Pathol.* 120:767-777 (2003).
7. García-Cosío M, Santón A, Martín P, Camarasa N, Montalban C, García JF, Bellas C. Analysis of transcription factor OCT.1, OCT.2 and BOB.1 expression using tissue arrays in classical Hodgkin's lymphoma. *Modern Pathology* 00, 1–8 (2004).