CD1a – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP80)

Rabbit anti-human CD1a Monoclonal Antibody (Clone EP80)

Código	**EP-12-50523**	**1ml**	**Concentrado**
	EP-12-50521	**0.1ml**	**Concentrado**
	EP-12-50524	**1 ml**	**Pronto para uso**
	EP-12-50526	**6 ml**	**Pronto para uso**

- Diluição recomendada : 1:25 - 1:50
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8ºC (não congelar)
- Clone : EP80
- Isotipo Ig : IgG
- Imunógeno : Peptídeo sintético correspondente a resíduos na proteína CD1a humana.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Pele
- 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 grupo de diferenciação 1a (CD1a) faz parte de uma família de glicoproteínas do tipo antígeno de complexo de histocompatibilidade principal (MHC) que se associam à microglobulina beta-2. O CD1a liga-se a antígenos lipídicos e glicolipídicos, autóctones e não-próprios, apresentando-os aos receptores de células T em células T exterminadoras naturais. O anticorpo CD1a marca timócitos corticais, células de Langerhans e células dendríticas. Ele tem sido usado para identificar histiocitose de células de Langerhans e linfoma linfoblástico precursor / leucemia.

Armazenagem e estabilidade:
Armazenar entre 2ºC e 8ºC, 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 IHC e interpretação do resultado de coloração. A utilização em tecido congelado não foi validado.

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

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 Citrato pH6 (Recomendado EP-12-20557/8 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 20ºC 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:

- 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

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

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.Salamone MC, Fainboim L: Intracellular expression of CD1 molecules on PHA-activated normal T lymphocytes. Immunol Lett. 33:61-5 (1992).
2. Melian A, Beckman EM, Porcelli SA,Brenner MB: Antigen presentation by CD1 and MHC-encoded class I-like molecules. Curr Opin Immunol. 8:82-8 (1996).
3. Mazal PR, Hainfellner JA, Preiser J, Czech T, Simonitsch I, Radaszkiewicz T, Budka H: Langerhans cell histiocytosis of the hypothalamus: diagnostic value of immunohistochemistry. Clin Neuropathol. 15:87-91 (1996).
4. Wright-Browne V, McClain KL, Talpaz M, Ordonez N, Estrov Z: Physiology and pathophysiology of dendritic cells. Hum Pathol. 28:563-79 (1997).
5. Chimenti S, Fink-Puches R, Peris K, Pescarmona E, Putz B, Kerl H, Cerroni L:Cutaneous involvement in lymphoblastic lymphoma. J Cutan Pathol. 26:379-85 (1999).
6. Gaertner EM, Tsokos M, Derringer GA, Neuhauser TS, Arciero C, Andriko JA: Interdigitating dendritic cell sarcoma. A report of f our cases and review of the literature. Am J Clin Pathol.115:589-97 (2001).
7. Pomplun S, Wotherspoon AC, Shah G, Goldstraw P, Ladas G, Nicholson AG: Immunohistochemical markers in the differentiation of thymic and pulmonary neoplasms. Histopathology. 40:152-8 (2002).
8. Pileri SA, Grogan TM, Harris NL, Banks P, Campo E, Chan JK, Favera RD, Delsol G, De Wolf-Peeters C, Falini B, Gascoyne RD, Gaulard P, Gatter KC, Isaacson PG, Jaffe ES, Kluin P, Knowles DM, Mason DY, Mori S, Muller-Hermelink HK, Piris MA, Ralfkiaer E, Stein H, Su IJ, Warnke RA, Weiss LM: Tumours of histiocytes and accessory dendritic cells: an immunohistochemical approach to classification from the International Lymphoma Study Group based on 61 cases. Histopathology. 41:1-29 (2002).

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