

CD23 – Anticorpo Monoclonal – Clone (SP23)

Rabbit Anti-CD23 Monoclonal Antibody (Clone SP23)

Códigos	EP-12-50563	1ml	concentrado
	EP-12-50561	0.1ml	concentrado
	EP-12-50564	1ml	pronto para uso
	EP-12-50566	6ml	pronto para uso

- Diluição recomendada : 1:50 – 1:100
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : SP23
- Isotipo Ig : Coelho IgG
- Imunógeno : Proteína recombinante que codifica CD23 48238aa humano.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Amígdala
- 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 papel das imunoglobulinas IgE na iniciação e desenvolvimento de processos alérgicos agudos é bem conhecido. Estes processos são geralmente iniciados através de sua interação com receptores de alta afinidade para a porção Fc (FcεRI) localizada principalmente na superfície dos mastócitos e granulócitos basófilos onde regula fenômenos de exocitose e subsequente degranulação de mediadores de reações de hipersensibilidade tipo I. Além disso, a imunoglobulina IgE também se liga especificamente a uma glicoproteína de membrana integral de 45-55 kDa tipo 2 (321 aa) que não pertence à superfamília de imunoglobulina mas às selectinas e está incluída sob o nome de receptor de baixa afinidade de IgE (FcεRIIa + b / CD23). O CD23 é expresso numa ampla gama de tipos de células, incluindo linfócitos B, eosinófilos, granulócitos, plaquetas, células T e NK, células do retículo dendrítico e células de Langerhans. A expressão de CD23 foi detectada em células linfóides neoplásicas de leucemia linfocítica crônica, em uma porcentagem variável de linfomas foliculares e em uma pequena proporção de grandes linfomas de células B. Além disso e embora a molécula CD23 seja produzida por células B, é adsorvida em grande quantidade nas células reticulares dendríticas foliculares, sendo assim também utilizada para a identificação dos seus neoplasmas (sarcoma de células reticulares dendríticas).

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°C por 3 horas, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada
- 2 - Recuperação antigênica - Colocar 600 ml 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) ou Diva (Biocare), 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.

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. Pallesen G, Myhre-Jensen O: Immunophenotypic analysis of neoplastic cells in follicular dendritic cell sarcoma. *Leukemia*. 1:549-57 (1987).
2. Kurtin PJ, Hobday KS, Ziesmer S, Caron BL: Demonstration of distinct antigenic profiles of small B-cell lymphomas by paraffin section immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol*. 112:319-29 (1999).
3. Sayers I, Helm BA: The structural basis of human IgE-Fc receptor interactions. *Clin Exp Allergy*. 29:585-94 (1999).
4. Bagdi E, Krenacs L, Krenacs T, Miller K, Isaacson PG: Follicular dendritic cells in reactive and neoplastic lymphoid tissues: a reevaluation of staining patterns of CD21, CD23, and CD35 antibodies in paraffin sections after wet heat-induced epitope retrieval. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 9:117-24 (2001).
5. Maeda K, Matsuda M, Suzuki H, Saitoh HA: Immunohistochemical recognition of human follicular dendritic cells (FDCs) in routinely processed paraffin sections. *J Histochem Cytochem*. 50:1475-86 (2002).
6. Linderth J, Jerkeman M, Cavallin-Stahl E, Kvaloy S, Torlakovic E; Nordic Lymphoma Group Study: Immunohistochemical expression of CD23 and CD40 may identify prognostically favorable subgroups of diffuse large B-cell lymphoma: a Nordic Lymphoma Group Study. *Clin Cancer Res*. 9:722-8 (2003).
7. Chang KC, Huang X, Medeiros LJ, Jones D: Germinal centre-like versus undifferentiated stromal immunophenotypes in follicular lymphoma. *J Pathol*. 201:404-12 (2003).