

CD43 - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (DF-T1)

Mouse anti-human CD43 Monoclonal Antibody (Clone DF-T1)

Código	EP-12-50703	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	DF-T1
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1
• Imunógeno	:	Células KG1 mieloblásticas.
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Amígdala
• Marcação	:	Membranar

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 CD43 (leucosialina, sialoforina ou sialoglicoproteína leucocitária) é uma glicoproteína da superfície celular que é expressa em todos os tímócitos e células T. CD43 está envolvido na ativação de células T, células B, células NK e monócitos. O anticorpo anti-CD43 reconhece uma glicoproteína da superfície celular de 95/115 / 135kDa (dependendo da extensão da glicosilação), identificada como CD43. 70-90% dos linfomas de células T e 22-37% dos linfomas de células B expressam CD43. Nenhuma reatividade foi observada com células B reativas. Assim, é altamente provável que uma população de linhagem B que expressa CD43 seja um linfoma maligno, especialmente um linfoma de baixo grau, em vez de uma população de células B reativas. Quando o anticorpo CD43 é usado em combinação com o anti-CD20, a imunofenotipagem eficaz dos linfomas em tecidos fixados em formalina pode ser obtida. A co-coloração de um infiltrado linfóide com anti-CD20 e anti-CD43 argumenta contra um processo reativo e favorece o diagnóstico de linfoma.

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 IHQ e interpretação do resultado de coloração. A utilização em tecido congelado não foi validado.

Protocolo:

- 1 - Desparafinação - 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 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 desparafinar, 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 desparafinar 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.Ojima H, Hasegawa T, Matsuno Y, Sakamoto M. Extramedullary myeloid tumour (EMMT) of the gallbladder. J Clin Pathol. 2005 Feb;58(2):211-3
- 2.Bégueret H, Vergier B, Parrens M, Lehours P, Laurent F, Vernejoux JM, Dubus P, Velly JF, Mégraud F, Taytard A, Merlio JP, de Mascarel A. Primary Lung Small B-Cell Lymphoma versus Lymphoid Hyperplasia: Evaluation of Diagnostic Criteria in 26 Cases. Am J Surg Pathol. 2002 Jan;26(1):76-81
- 3.McClure RF, Remstein ED, Macon WR, Dewald GW, Habermann TM, Hoering A, Kurtin PJ. Adult B-cell lymphomas with burkitt-like morphology are phenotypically and genotypically heterogeneous with aggressive clinical behavior. Am J Surg Pathol. 2005 Dec;29(12):1652-60
- 4.Yang F, Tran TA, Carlson JA, Hsi ED, Ross CW, Arber DA. Paraffin section immunophenotype of cutaneous and extracutaneous mast cell disease: comparison to other hematopoietic neoplasms. Am J Surg Pathol. 2000 May;24(5):703-9
- 5.Schwartz EJ, Molina-Kirsch H, Zhao S, Marinelli RJ, Warnke RA, Natkunam Y. Immunohistochemical characterization of nasal-type extranodal NK/T-cell lymphoma using a tissue microarray: an analysis of 84 cases. Am J Clin Pathol; 130(3): 343-351. 2008.
- 6.Mitrovic Z, Ilic I, Nola M, Aurer I, Sonicki Z, Basic-Kinda S, Radman I, Ajdukovic R, Labar B. CD43 expression is an adverse prognostic factor in diffuse large B-Cell lymphoma. Clin Lymphoma Myeloma; 9(2):133-137. 2009.
- 7.Salama ME, Lossos IS, Warnke RA, Natkunam Y. Immunoarchitectural patterns in nodal marginal zone B-cell lymphoma: a study of 51 cases. Am J Clin Pathol; 132(1):39-49. 2009
- 8.Markoc F, Bozdogan N, Yükrük FA, Gumuc EB, Akdur NC. Granulocytic sarcomas: difficulties in diagnosis. Tumori; 96(1):149-153. 2010.