

FCGR1A (CD64) – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EPR4624)

Rabbit anti-human FCGR1A (CD64) Monoclonal Antibody (Clone EPR4624)

Código	EP-12-50823	1ml
• Diluição recomendada	:	1:100
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EPR4624
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Peptídeo sintético correspondente a o C-terminal do FCGR1A humano.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção de tecido da amígdala.
• Marcação	:	Citoplasma e Membrana

Aplicações conhecidas

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

Especificações:

Este anticorpo, também conhecido como HAM56, reconhece o receptor de imunoglobulina gama 1 (FcγRI / CD64) expresso em pessoas saudáveis em aproximadamente 10% dos monócitos circulantes e codificado por um gene localizado na região cromossômica 1q21.2. Existem três tipos de FcγRs expressos em monócitos circulantes, sendo o receptor FcγRs / CD64 de alta afinidade expresso constitutivamente; o FcγRII / CD32 de baixa afinidade com duas isoformas funcionalmente diferentes e o receptor de afinidade moderada FcγRIII / CD16, expresso em 10% -15% dos monócitos circulantes. Este anticorpo pode ser utilizado para a detecção de algumas leucemias com diferenciação monocítica como a leucemia mielóide aguda (LMA) sem maturação, LMA minimamente diferenciada, uma vez que nos blastos da AML com maturação a expressão de CD64 geralmente não está presente. Também é positivo em LMA t (99; 11) MLLT3-MLL, LMA t (6; 9) DEK NUP214 em alguns casos. O CD64 é expresso em alguns blastos com diferenciação monocítica na leucemia mielomonocítica e na leucemia monoblástica aguda e monocítica. A expressão de CD64 pode ser usada como biomarcador de infecções intra-abdominais / sepse neonatal. Sua expressão mostrou aumentar no sangue periférico de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico, com altos níveis de CD64 associados à nefrite lúpica. Os níveis mais elevados foram identificados em doentes não tratados com febre mediterrânea familiar de baixa expressão após o tratamento com colchicina. Como um marcador da proteína C ativada, a imunomarcacção de biópsias de pele com CD64 pode ser útil no diagnóstico da doença do enxerto contra o hospedeiro.

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 600ml de água destilada na câmara pressurizada (MuscaePlus/ 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 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 horizontal, 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).

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. Takai S, Kasama M, Yamada K, Kai N, Hirayama N, Namiki H, Taniyama T. Human high-affinity Fc gamma RI (CD64) gene mapped to chromosome 1q21.2-q21.3 by fluorescence in situ hybridization. Hum Genet. 1994 Jan;93(1):13-5
2. Bang R, Marnell L, Mold C, Stein MP, Clos KT, Chivington-Buck C, Clos TW. Analysis of binding sites in human C-reactive protein for Fc{gamma}RI, Fc{gamma}RIIA, and C1q by site-directed mutagenesis. J Biol Chem. 2005 Jul 1;280(26):25095-102
3. Ball ED, McDermott J, Griffin JD, Davey FR, Davis R, Bloomfield CD. Expression of the three myeloid cell-associated immunoglobulin G Fc receptors defined by murine monoclonal antibodies on normal bone marrow and acute leukemia cells. Blood. 1989 May 15;73(7):1951-6
4. Manaloor EJ, Neiman RS, Heilman DK, Albitar M, Casey T, Vattuone T, Kotylo P, Orazi A. Immunohistochemistry can be used to subtype acute myeloid leukemia in routinely processed bone marrow biopsy specimens. Comparison with flow cytometry. Am J Clin Pathol. 2000 Jun;113(6):814-822
5. Migita K, Agematsu K, Yamazaki K, Suzuki A, Yazaki M, Jiuchi Y, Miyashita T, Izumi Y, Koga T, Kawakami A, Eguchi K. Expression of CD64 on polymorphonuclear neutrophils in patients with familial Mediterranean fever. Clin Exp Immunol. 2011 Jun;164(3):365-72
6. Hussein OA, El-Toukhy MA, El-Rahman HS. Neutrophil CD64 expression in inflammatory autoimmune diseases: its value in distinguishing infection from disease flare. Immunol Invest. 2010;39(7):699-712
10. Tillinger W, Jilch R, Jilma B, Brunner H, Koeller U, Lichtenberger C, Waldhör T, Reinisch W. Expression of the high-affinity IgG receptor FcRI (CD64) in patients with inflammatory bowel disease: a new biomarker for gastroenterologic diagnostics. Am J Gastroenterol; 104(1):102-109. 2009.
11. Li Y, Lee PY, Sobel ES, Narain S, Satoh M, Segal MS, Reeves WH, Richards HB. Increased expression of FcgammaRI/CD64 on circulating monocytes parallels ongoing inflammation and nephritis in lupus. Arthritis Res Ther.;11(1):R6. 2009.
12. van Royen-Kerkhof A, Walraven V, Sanders EA, de Weger R, van Wichen DF, de Koning E, Thepen T, van de Winkel JG, Leusen JH. Expression of CD64 (FcyRI) in skin of patients with acute GVHD. Bone Marrow Transplant. 2011 Dec;46(12):1566-9
13. Lam HS, Wong SP, Cheung HM, Chu WC, Wong RP, Chui KM, Liu FY, Li K, Fok TF, Ng PC. Early Diagnosis of Intra-Abdominal Inflammation and Sepsis by Neutrophil CD64 Expression in Newborns. Neonatology.;99(2):118-1124. 2011.