

## CD71 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (10F11)

Mouse anti-human CD71 Monoclonal Antibody (Clone 10F11)

| Código                         | EP-12-50853 | 1ml                                               |
|--------------------------------|-------------|---------------------------------------------------|
| • Diluição recomendada         | :           | 1:50                                              |
| • Validade e lote do produto   | :           | Ver frasco                                        |
| • Temperatura de armazenamento | :           | 2 à 8°C (não congelar)                            |
| • Clone                        | :           | 10F11                                             |
| • Isotipo Ig                   | :           | Camundongo IgG                                    |
| • Imunógeno                    | :           | Proteína recombinante procariótica.               |
| • Reatividade                  | :           | RUO – (Humanos – não testados em outras espécies) |
| • Controle positivo            | :           | Medula óssea                                      |
| • Marcação                     | :           | Membrana e Citoplasma 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:

CD71 reconhece uma glicoproteína de 90kDa codificada por um gene localizado na região cromossômica 3q29. É uma molécula de recirculação entre ambiente extra e intracelular, localizada na superfície de todas as células em proliferação, que tem um papel importante no transporte transcelular do ferro. É especificamente expresso na superfície das células precursoras da linha eritróide, com expressão reduzida em reticulócitos e perda completa da expressão em elementos eritróides maduros. Em tecidos normais é um marcador útil na identificação de precursores eritróides ou células despogênicas da medula óssea normal, pois as outras células da linhagem mieloide ou células eritróides maduras são negativas. Outras células que normalmente expressam o anticorpo são os sinciciotrofoblastos placentários, miócitos, ceratinócitos basais, hepatócitos, células da ilhota de Langerhans pancreáticas e espermatozoides. Nas lesões tumorais, o CD71 é um marcador com valor diagnóstico para os casos de leucemia eritróide, enquanto os precursores eritróides do eritrócito têm expressão diminuída. Em todos esses casos, em comparação com a coloração dos anticorpos anti-hemoglobina e glicoforina A, o CD71 é mais sensível e específico por não apresentar reação com os elementos eritróides maduros, facilitando a interpretação. Resultados semelhantes são obtidos em biópsias fixadas no fixador ou parafina de Zenker. Exceto a leucemia eritróide, o anticorpo é negativo em todos os tumores primários e lesões metastáticas da medula óssea. Nos linfomas extramedulares, o anticorpo é positivo em casos isolados de linfoma difuso de grandes células B, linfomas de células T periféricas, linfomas anaplásicos de grandes células e nas células de Reed-Sternberg do linfoma de Hodgkin. Nos carcinomas de mama, a expressão de CD71 foi detectada em um grupo de tumores com genótipo luminal e basal (mais comum no carcinoma medular) resistentes ao tratamento com tamoxifeno. Em estudos experimentais em carcinomas de mama, modelos utilizando anticorpos dirigidos contra CD71, uma inibição da proliferação celular e sobrevivência foi observada, sugerindo CD71 como um possível novo alvo terapêutico em casos de carcinoma CD71 positivo.

### 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 seção 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 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 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](http://www.grupoerviegas.com.br).

#### **Referências Bibliográficas**

1. Kashuba VI, Gizatullin RZ, Protopopov AI, Allikmets R, Korolev S, Li J, Boldog F, Tory K, Zabarovska V, Marcsek Z, Sumegi J, Klein G, Zabarovsky ER, Kisselev L. NotI linking/jumping clones of human chromosome 3: mapping of the TFRC, RAB7 and HAUSP genes to regions rearranged in leukemia and deleted in solid tumors. FEBS Lett. 1997;419:181-185
2. Marsee DK, Pinkus GS, Yu H. CD71 (transferrin receptor): an effective marker for erythroid precursors in bone marrow biopsy specimens. Am J Clin Pathol. 2010;134:429-435
3. Dong HY, Wilkes S, Yang H. CD71 is selectively and ubiquitously expressed at high levels in erythroid precursors of all maturation stages: a comparative immunochemical study with glycophorin A and hemoglobin A. Am J Surg Pathol. 2011;35:723-732
4. Zuo Z, Polski JM, Kasyan A, Medeiros LJ. Acute erythroid leukemia. Arch Pathol Lab Med. 2010 Sep;134(9):1261-70
5. Habashy HO, Powe DG, Staka CM, Rakha EA, Ball G, Green AR, Aleskandarany M, Paish EC, Douglas Macmillan R, Nicholson RI, Ellis IO, Gee JM. Transferrin receptor (CD71) is a marker of poor prognosis in breast cancer and can predict response to tamoxifen. Breast Cancer Res Treat. 2010;119:283-293

