

OCT-2 - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (PT2)

Mouse anti-human OCT-2 Monoclonal Antibody (PT2)

Código	EP-12-52253	1ml
• Diluição recomendada	:	1:20
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	PT2
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1
• Imunógeno	:	comprimento total Oct-2 de origem humana.
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Amígdala, infoma B e linfoma de Hodgkin
• Marcação	:	Nuclear

Aplicações conhecidas

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

Especificações:

Os fatores de transcrição Oct1 e OCT2 estão localizados nas regiões cromossômicas 1q22-q23 e 19, respectivamente, e pertencem aos genes homeobox da família POU que se ligam ao DNA em várias configurações monoméricas e diméricas. Dependendo da sequência de DNA com a qual os dímeros são unidos, eles estão alinhados numa configuração acessível (sequência MAIS) ou inacessível (sequência PORE) para desempenho específico do cofactor OBF1 dos linfócitos B (Ocab, BOB1). OCT 2 é um elemento importante para a regulação da transcrição celular e tecidual específica, bem como a transcrição de numerosos controladores gênicos. Enquanto a expressão de Oct1 é onipresente, a expressão do fator de transcrição nuclear OCT2 é restrita a neurônios normais do sistema nervoso central e linfócitos B. Este anticorpo reconhece o fator de transcrição Oct-2 de origem humana, murina e de camundongo e não apresenta reação cruzada com outros fatores de transcrição. Oct-2 é expresso em linfócitos B normais com maior intensidade no centro germinativo dos folículos linfóides. Linfócitos pequenos das áreas do manto têm menor intensidade e um pequeno número de linfócitos das áreas marginal e interfolicular também apresentam intensa coloração nuclear. Como a expressão de Oct-2 está relacionada ao estado de maturação das células B, o anticorpo é útil principalmente na identificação de linfomas de células B originados no centro germinativo. Em contraste com as células L e H da doença de Hodgkin (HD) predominante de linfócitos, as células de Reed-Sternberg (RS) do tipo clássico HD não conseguem transcreever as imunoglobulinas devido à ausência de Oct-2. Portanto, Oct-2 tem sido considerado um novo marcador para identificar e diferenciar o L & H das células HRS na doença de Hodgkin. No sistema nervoso, considera-se que a expressão de Oct-2 desempenha um papel importante na maturação sexual feminina em mamíferos regulados pelo hipotálamo e na regulação do período de latência após a infecção pelo herpesvírus.

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 - 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 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. Scheidereit, C., Cromlish, J.A., Gerster, T., Kawakami, K., Balmaceda, C. Currie, R.A., and Roeder, R.G. A human lymphoid-specific transcription factor that activates immunoglobulin genes is a homeobox protein. *Nature* 336: 551-557 (1988).
2. Tomilin, A. Remenyi, A., Lins, K., Bak, H., Leidel, S., Vriend, G., Wilmanns, M., and Scholer, H.R. Synergism with the coactivator OBF-1 (OCA-B, BOB-1) is mediated by a specific POU dimer configuration. *Cell* 103: 853-864 (2000).
3. Re D, Muschen M, Ahmadi T, Wickenhauser C, Staratschek-Jox A, Holtick U, Diehl V, Wolf J. Oct-2 and Bob-1 deficiency in Hodgkin and Reed Sternberg cells. *Cancer Res.* 61:2080-2084 (2001).
4. Stein H, Marafioti T, Foss HD, Laumen H, Hummel M, Anagnostopoulos I, Wirth T, Demel G, Falini B. Down-regulation of BOB.1/OBF.1 and Oct2 in classical Hodgkin disease but not in lymphocyte predominant Hodgkin disease correlates with immunoglobulin transcription. *Blood.* 97:496-501 (2001).
5. Saez AI, Artiga MJ, Sanchez-Beato M, Sanchez-Verde L, Garcia JF, Camacho FI, Franco R, Piris MA. Analysis of octamer-binding transcription factors Oct2 and Oct1 and their coactivator BOB.1/OBF.1 in lymphomas. *Mod Pathol.* 15:211-220 (2002).
6. Steimle-Grauer S A, Tinguely M, Seada L, Fellbaum C, Hansmann ML. Expression patterns of transcription factors in progressively transformed germinal centers and Hodgkin lymphoma. *Virchows Arch.* 442:284-293 (2003).