

## TIA1 – Anticorpo Monoclonal Anti-humano – (Clone 2G9A10F5)

Mouse anti-human TIA1 Monoclonal Antibody (Clone 2G9A10F5)

Código	EP-12-53073	1ml	Concentrado
	EP-12-53071	0.1 ml	Concentrado
	EP-12-53074	1ml	Pronto para uso
	EP-12-53076	6ml	Pronto para uso

- Diluição recomendada : 1:50 – 1:80
- Validade e lote do produto : ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : 2G9A10F5
- Isotipo Ig : Camundongo IgG1
- Imunógeno : Células malignas da medula óssea humana de uma leucemia aguda não B, não-T.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Baço ou amígdala
- Marcação : Granular, 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:

O antígeno intracelular 1 das células T (TIA-1) é uma proteína associada a grânulos citoplasmáticos de 17 kDa, também designada como GMP-17, para proteína de membrana granular de 17 kDa. A molécula de GMP-17 / TIA-1 é expressa em células que possuem potencial citolítico e podem estar envolvidas na cascata de sinalização de apoptose mediada por Fas (CD95).

Nas linhas celulares hematopoiéticas, o anticorpo monoclonal 2G9 (mAb) reage com cerca de 90% dos CD16 +, 50-60% dos CD8 + e menos de 10% dos linfócitos normais do sangue periférico CD4 +. Reage com quase todos os monócitos e granulócitos. Este anticorpo também reage com clones de células T activados por CD4 +, clones de células NK activados e tímicos activados por Con-A, mas não com linfócitos B ou linhas de células B.

### 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 (Muscae Plus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 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 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 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. Anderson, p., Nagler-Anderson, C., Obrien, C., Levine, H., Watkins, S., Slayter, H.S., Blue, M-L., Schlossman, S.F., "A monoclonal antibody reactive with a 17 kD cytoplasmic granule associated protein defines a subpopulation of CD8+ T lymphocytes" 1990, J.Immunol., 2, 144, 574-582.
2. Tian, Q., Streuli, M., Saito, H., Schlossman, S.F., Anderson, P., "A polydenylate binding protein localized to the granulates of cytolytic lymphocytes induces DNA fragmentation in target cells", 1991, Cell, 67, 692-639.
3. Meehan, S.M., McCluskey, R.T., Pascual, M., Preffer, F.I., Anderson, P., Schlossman, S.F., Colvin, R.B., "Cytotoxicity and apoptosis in human renal allografts: identification, distribution, and quantitation of cells with a cytotoxic granule protein GMP-17 (TIA-1) and cells with fragmented nuclear DNA", 1997, Lab. Invest., 76, 639-649.
4. Tian, Q., Taupin, J.L., Elledge, S., Robertson, M., Anderson, P., "Fast-activated serine/threonine kinase (FAST) phosphorylates TIA-1 during Fas-mediated apoptosis", 1995, J. Exp. Med., 182, 865-874.

