

## CD68 - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (KP-1)

Mouse anti-human CD68 Monoclonal Antibody (Clone KP-1)

Código EP-12-50833 1ml

Diluição recomendada : 1:50
Validade e lote do produto : Ver frasco

• Temperatura de armazenamento : 2 à 8ºC (não congelar)

• Clone : KP-1

Isotipo Ig
: Camundongo IgG1/k

Imunógeno : Fração subcelular do alvéolo macrófagos humano.
Reatividade : RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)

Controle positivo : Linfoma das amígdalas

Marcação : Citoplasma e Membrana celular

## Aplicações conhecidas

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

## Especificações:

O anti-CD68 marca as células da linhagem de monócitos / macrófagos. Este anticorpo é capaz de corar monócitos, células de Kupffer, osteoclastos, células NK, granulócitos e seus precursores; os linfomas são negativos ou mostram alguns grânulos. Este anticorpo pode ser útil para a identificação de tumores mielomonocíticos e histiocíticos. O anti-CD68 pode ajudar a distinguir o histiocitoma fibroso maligno de outros sarcomas pleomórficos. No entanto, uma vez que isto detecta um epítopo resistente à formalina que pode estar associado a grânulos lisossomais, outras células ricas em lisossomos também podem corar.

## Armazenagem e estabilidade:

Armazenar entre  $2^{\circ}$ C e  $8^{\circ}$ 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 sensiveis 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. Estes incluem, mas não estão limitados a: fixação, método de recuperação com calor, tempos de incubação, espessura do corte do tecido e kit de detecção usado. Devido a sensibilidade superior destes reagentes únicos, a recomendação dos tempos de incubação e títulos enumerados não são aplicáveis para outros sistemas de detecção, pois os resultados podem variar. As recomendações da bula e protocolos estão baseados com o uso exclusivo dos produtos EasyPath. É de responsabilidade do pesquisador determinar as condições ideais.

#### Protocolo:

- 1 Desparafinização Estufa 60-65°C por 1 hora, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada
- 2 Recuperação antigênica Colocar 500ml de água destilada na panela elétrica (NxGen/Biocare) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath), tampar a panela e deixar 10 minutos em 110 C, conforme pré-programado, esfriar em temperatura ambiente por 20 minutos no próprio tampão.
- 3 Bloqueador de Peroxidase (Recomendado EP-11-20521/2/3 EayPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.





- 4 Bloqueador de Proteína (Recomentado EP-12-20531/2/3 EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 5 Anticorpo primário por 30 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 6 Sistema de Detecção (Recomendado EP-12-20501/2/3/4/5/6 EasyLink One EasyPath) por 30 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 7 DAB (Recomendado EP-12-20541/2/3/5 EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 EasyPath), depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 8 Hematoxilina (Recomendado EP-11-20571/3 EasyPath) por 1 minuto e lavar em água corrente por 1 minuto.
- 9 Bateria de álcool e xilol
- 10 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 20ºC 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 coloração horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05021.

Câmara pressurizada NxGen (Biocare) 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 maiores informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site www.grupoerviegas.com.br.