



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

DEPTO. DE BIOQUÍMICA E IMUNOLOGIA

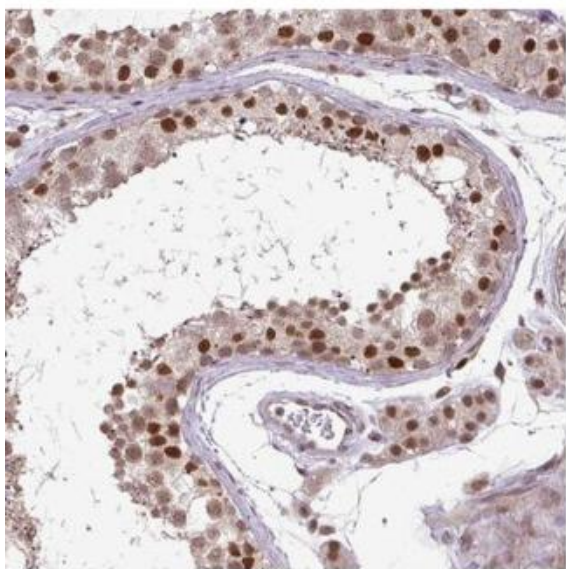
UFMG

Belo Horizonte, 5 de maio de 2025

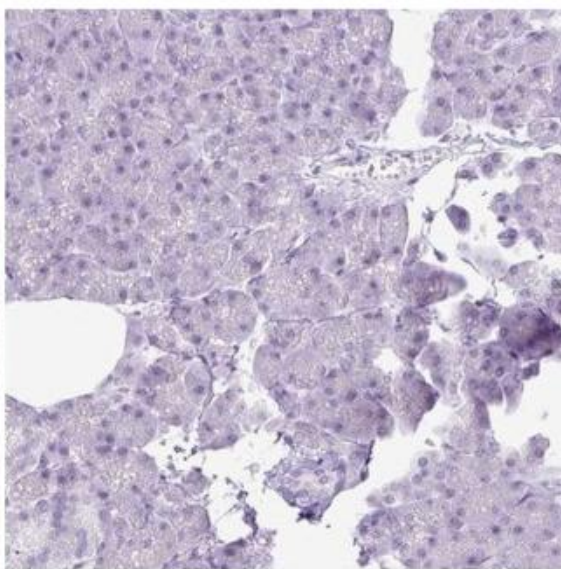
Prezados compradores da FAU

Seguem as justificativas técnicas para a escolha dos anticorpos realizadas no pedido de número 26049:

Os experimentos realizados nesta pesquisa exigem o uso dos anticorpos da marca e número de catálogo especificados, pois foram validados e padronizados recentemente no laboratório após utilização de pequenas amostras disponibilizados por colaboradores ou por resultados de seus fabricantes, ver figura 1 e figura 2, em anexo.



KPNA1 in Testis



KPNA1 in Pancreas

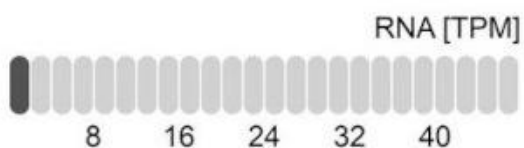
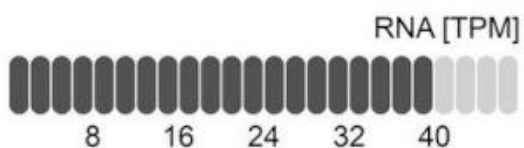


Figura 1: O anticorpo anti KPNA1 foi verificado por expressão relativa para garantir que o anticorpo se ligue ao antígeno indicado. Expressão relativa em diferentes tecidos em imunohistoquímica: A detecção de níveis de expressão diferencial de KPNA1 demonstra a especificidade do anticorpo. A análise imunohistoquímica de KPNA1 usando o anticorpo policlonal anti-KPNA1 (Produto n PA5-84165) mostra coloração significativa de KPNA1 nos testículos e coloração mínima ou fraca nos tecidos do pâncreas. Os níveis de expressão relativa de KPNA1 em cada tecido são mostrados usando RNA-Seq (dados disponibilizados pelo fabricante).

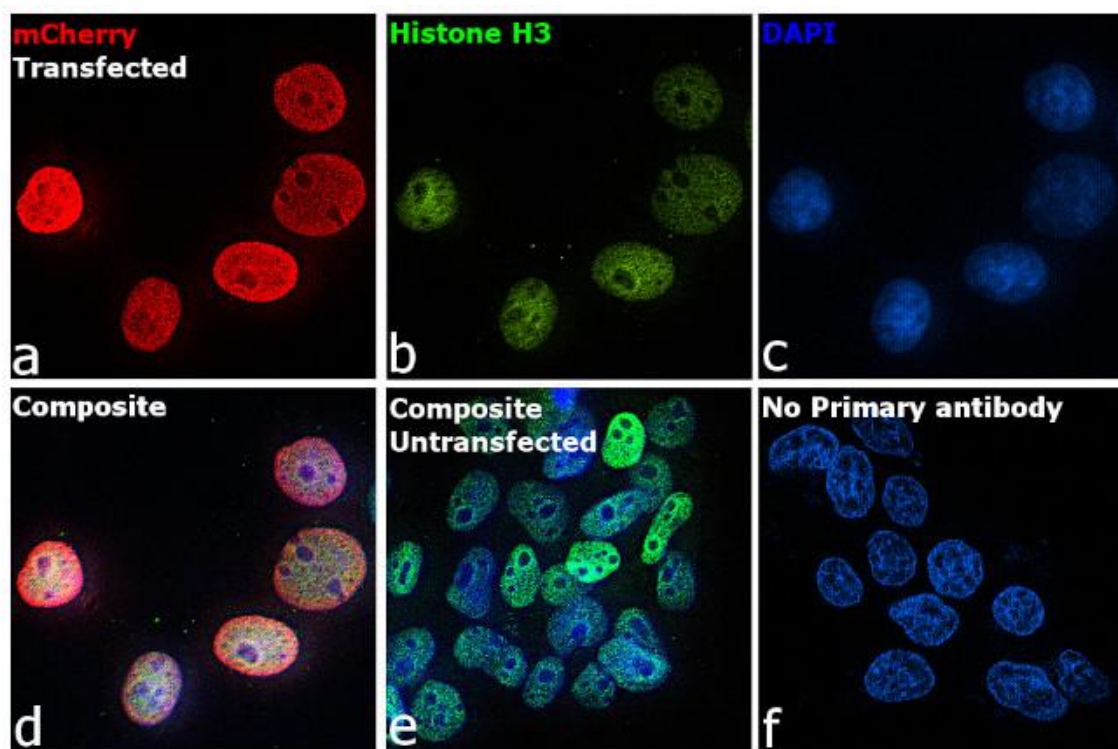


Figura 2. O anticorpo anti-mCherry foi validado por análise por imunofluorescência. Foi utilizado células HEK-293 transfectadas com uma construção molecular com a proteína mCherry. As células foram fixadas com paraformaldeído a 4% por 10 minutos, permeabilizadas com Triton™ X-100 a 0,1% por 15 minutos e bloqueadas com BSA a 2% por 1 hora à temperatura ambiente. As células foram marcadas com anticorpo policlonal mCherry (produto nº PA5-34974) na diluição de 1:100 e anticorpo monoclonal histona H3 (865R2) (produto nº AHO1432) na diluição de 1:200 em BSA a 0,1%, incubadas a 4 °C durante a noite e, em seguida, marcadas com anticorpo secundário altamente adsorvido de cabra anti-IgG de coelho (H+L), Alexa Fluor Plus 647 (produto nº A32733) e anticorpo secundário altamente adsorvido de cabra anti-IgM de camundongo (cadeia pesada), Alexa Fluor 488 (produto nº A-21042), respectivamente na diluição de 1:2.000 por 45 minutos à temperatura ambiente. O painel a (núcleos: vermelho)

representa a etiqueta mCherry. O painel b (núcleos: verde) representa a histona H3. O painel c (Núcleos: Azul) representa o ProLong™ Diamond com DAPI (Produto nº P36962). O painel d representa a imagem mesclada mostrando a colocalização de sinais nucleares em células transfectadas. O painel e representa células HEK-293 não transfectadas. O painel f representa células controle sem anticorpo primário para avaliar o fundo. As imagens foram capturadas com ampliação de 60X (dados disponibilizados pelo fabricante).

Os anticorpos escolhidos já foram utilizados com sucesso em pesquisas anteriores, resultando em publicações e padronizações que são fundamentais para o progresso da pesquisa atual. Por exemplo: O anticorpo O PA5-34974 foi usado no Western Blotting para demonstrar a existência de um compartimento de sinalização de Ca^{2+} funcionalmente independente no miócito cardíaco que regula a hipertrofia e fornece uma premissa para direcionar os sinaisossomos mAKAP β para prevenir seletivamente a hipertrofia cardíaca na doença" (doi: 10.1016/j.yjmcc.2022.07.007).

A utilização de produtos ou prestadores diversos pode resultar em prejuízos significativos para a pesquisa, incluindo a perda de tempo e recursos, além de comprometer a integridade dos resultados. A escolha dos anticorpos específicos é crucial para garantir a continuidade e a qualidade da pesquisa. A alteração da marca ou mesmo do número de catálogo poderia comprometer a qualidade, a confiabilidade e a reprodutibilidade dos resultados obtidos, além de gerar custos adicionais com novas validações e padronizações. Portanto, a escolha dos anticorpos se justifica pela necessidade técnica e pela economicidade da contratação.

Estou à disposição para qualquer esclarecimento adicional.

Atenciosamente,



Dawidson Assis Gomes, MSc, PhD

Professor associado da UFMG