

Delta Catenina-1 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP66)*Rabbit anti-human Delta Catenin-1 (p120) Monoclonal Antibody (Clone EP66)*

Código	EP-12-51273	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP66 ³
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Um péptido sintético correspondente a resíduos na proteína catenina humana p120.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Mama normal, fígado.
• Marcação	:	Citoplasma celular ou membrana celular dependendo do tipo de neoplasia

Aplicações conhecidas

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

Especificações:

As cateninas são proteínas que estão ligadas ao domínio citoplasmático das caderinas transmembranares. A catenina p120 é um membro desta família do gene Armadillo de proteínas da placa juncional. A associação de cateninas a caderinas produz um complexo que está ligado à rede de filamentos de actina e que parece ser importante para as propriedades de adesão das caderinas. O acúmulo citoplasmático de catenina p120 foi observado em câncer de pulmão, câncer de pâncreas, câncer gástrico e câncer de cólon e está associado a um progresso ruim em pacientes com câncer de cólon. Na neoplasia lobular da mama, a catenina anti-p120 apresenta um padrão difuso de imunocoloração citoplasmática, enquanto a neoplasia ductal da mama retém o padrão de imunocoloração da membrana. O anticorpo catenina p120 é útil em diferenciação de carcinoma lobular de carcinoma ductal da mama e na identificação de lesões precoces de neoplasia lobular.

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 entrarem 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 (MuscaePluys/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 MuscaePluys (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.

Referência Bibliográfica

1. Hatzfeld M. The p120 family of cell adhesion molecules. Eur J Cell Biol; 84(2-3): 205-214. 2005.
2. p120ctn catenin gene (CTNND1): expression of multiple alternatively spliced isoforms. Genomics 50: 129-146. 1998.
3. van Hengel J. Nuclear localization of the p120(ctn) Armadillo-like catenin is counteracted by a nuclear export signal and by E-cadherin expression. Proc Natl Acad Sci U S A. 96: 7980-7985 1999.
4. Aho S. Specific sequences in p120ctn determine subcellular distribution of its multiple isoforms involved in cellular adhesion of normal and malignant epithelial cells. J Cell Sci. 115: 1391-1402. 2002.
5. Dabbs DJ, Bhargava R, Chivukula M. Lobular versus ductal breast neoplasms: the diagnostic utility of p120 catenin. Am J Surg Pathol. 31: 427-437. 2007.
6. McCrea PD, Park JI. Developmental functions of the P120-catenin sub-family. Biochim Biophys Acta; 1773(1):17-33. 2007.
7. Zhai B, Yan HX, Liu SQ, Chen L, Wu MC, Wang HY Reduced expression of P120 catenin in cholangiocarcinoma correlated with tumor clinicopathologic parameters. World J Gastroenterol. 14: 3739-3744. 2008.
8. Chetty R, Jain D, Serra S. p120 catenin reduction and cytoplasmic relocalization leads to dysregulation of E-cadherin in solid pseudopapillary tumors of the pancreas. Am J Clin Pathol. 130:71-76. 2008.
9. Silva Neto B, Smith GL, Mandeville JA, Vanni AJ, Wotkowicz C, Rieger-Christ KM, Baumgart E, Jacobs MA, Cohen MS, Zeheb R, Loda M, Libertino JA, Summerhayes IC. Prognostic significance of altered p120 ctn expression in bladder cancer. BJU Int. 101:746-752. 2008.
10. Minghao W, Qianze D, Di Z, Yunjie W. Expression of delta-catenin is associated with progression of human astrocytoma. BMC Cancer. 12; 11:514. 2011.
11. Ma LW, Zhou ZT, He QB, Jiang WW. Phosphorylated p120-catenin expression has predictive value for oral cancer progression. J Clin Pathol. Jan 18. 2012.