

Desmina – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (D33)

Mouse anti-human Desmin Monoclonal Antibody (Clone D33)

Código	EP-12-51283	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	D33
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1/k
• Imunógeno	:	Desmina do músculo humano.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Músculo ou Sarcoma
• Marcação	:	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:

A desmina é uma proteína de filamento intermediário dos músculos lisos e estriados. Anticorpo para Desmina reage com células estriadas (esqueléticas e cardíacas), bem como células musculares lisas. Nos músculos esqueléticos e cardíacos, a coloração é confinada às bandas Z, dando uma aparência característica estriada. O anticorpo anti-desmina é útil na identificação de tumores de origem miogênica. Reage com o leiomiossarcoma (músculo liso) e com o rabdomyossarcoma (músculo estriado). O anticorpo não cora células epiteliais ou mioepiteliais, tumores estromais endometriais ou câncer de ovário, tecido linfoide, osteócitos, condrócitos ou células mesoteliais.

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 - Desparafinação - 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 desparafinar, 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 MuscaePlus (EasyPath) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.

Dois séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCENDENTE: para desparafinar 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. Gabbiani G, Kapanci Y, Barazzone P, Franke WW. Immunochemical identification of intermediate-sized filaments in human neoplastic cells. A diagnostic aid for the surgical pathologist. *Amer J Pathol* 104(3):206-216 (1981).
2. Denk H, Krepler R, Artlieb U, Gabbiani G, Rungger-Brändle E, Leoncini P, Franke WW. Proteins of intermediate filaments. An immunohistochemical and biochemical approach to the classification of soft tissue tumors. *Amer J Pathol* 110(2):193-208 (1983).
3. Osborn M, Weber K. Tumor diagnosis by intermediate filament typing: a novel tool for surgical pathology. *Lab Invest* 48:372-394 (1983).
4. Evans DJ, et al. *J Clin Pathol* 36:57-62 (1983).
5. Osborn M, Altmannsberger M, Debus E, Weber K. Differentiation of the major human tumor groups using conventional and monoclonal antibodies specific for individual intermediate filament proteins. *Ann NY Acad Sci* 455:649-668 (1985).
6. Eusebi V, Rilke F, Ceccarelli C, Fedeli F, Schiaffino S, Bussolati G. Fetal heavy chain skeletal myosin. An oncofetal antigen expressed by rhabdomyosarcoma. *Amer J Surg Pathol* 10:680-686 (1986).
7. Eusebi V, Ceccarelli C, Gorza L, Schiaffino S, Bussolati G. Immunocytochemistry of rhabdomyosarcoma. The use of four different markers. *Amer J Surg Pathol* 10:293-299 (1986).
8. Seidal T, Kindblom LG, Angervall L. Myoglobin, desmin and vimentin in ultrastructurally proven rhabdomyomas and rhabdomyosarcomas. An immunohistochemical study utilizing a series of monoclonal and polyclonal antibodies. *Appl Pathol* 5:201-219 (1987).
9. Altmannsberger M, et al. *Lab Invest* 45:427-434 (1987).
10. Truong LD, Rangaeng S, Cagle P, Ro JY, Hawkins H, Font RL. The diagnostic utility of desmin. A study of 584 cases and review of the literature. *Amer J Clin Pathol* 93(3):305-314 (1990).
11. Hojo H, Newton WA Jr, Hamoudi AB, Qualman SJ, Wakasa H, Suzuki S, Jaynes F. Pseudosarcomatous myofibroblastic tumor of the urinary bladder in children: a study of 11 cases with review of the literature. An Intergroup Rhabdomyosarcoma Study. *Amer J Surg Pathol* 19:1224-1236 (1995).
12. Leong AS-Y, et al. Immunohistology and electron microscopy of anaplastic and pleomorphic tumors. Cambridge: Cambridge University Press, pp.59-93, 161-169 (1997).
13. Leong AS-Y, et al. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Oxford University Press, pp.153-154 (1999).

