

IgG4 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP138)

Rabbit anti-human IgG4 Monoclonal Antibody (Clone EP138)

Código	EP-12-51763	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP138
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Um péptido sintético correspondente a resíduos na região articulada de IgG4 Humana. Não reage de forma cruzada com IgG1, IgG2 ou IgG3.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Amígdala
• 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 IgG4 humana, uma das quatro subclasses de IgG, contém uma cadeia pesada gama 4e uma região articulada que é mais curta que a de IgG1. Nenhum alótipo foi detectado nas cadeias pesadas de IgG4. Suas duas funções efetoras primárias são ativadoras de complementos e ligação ao FcγR das células efetoras para iniciar a fagocitose. A IgG4 humana é responsável por menos de 6% do nível sérico total de IgG. Estudos recentes mostram que os níveis séricos e a coloração imuno-histoquímica com o anticorpo IgG4 é um marcador diagnóstico útil para doenças esclerosantes relacionadas à IgG4. Um novo conceito de doença sistêmica relacionada à IgG4 (DSI) foi estabelecido recentemente. A ISD é caracterizada por níveis séricos de IgG4 elevados e infiltrado plasmocitário IgG4 + extenso no pâncreas e / ou em outros órgãos, incluindo tecido peripancreático, ducto biliar, vesícula biliar, área portal do fígado, mucosa gástrica, mucosa do cólon, glândulas salivares, linfa, nós e medula óssea. A análise imuno-histoquímica da IgG4 é útil para identificar a DSI.

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 IHC 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 (Muscae Plus / 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 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 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 desparafinação 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. Neild GH, Rodriguez-Justo M, Wall C, Connolly JO. Hyper-IgG4 disease: report and characterisation of a new disease. BMC Med; 4: 23. 2006.
2. Sepehr A, Mino-Kenudson M, Ogawa F, Brugge WR, Deshpande V, Lauwers GY. IgG4+ to IgG+ plasma cells ratio of ampulla can help differentiate autoimmune pancreatitis from other "mass forming" pancreatic lesions. Am J Surg Pathol; 32(12): 1770-1779. 2008.
3. Morselli-Labate AM, Pezilli R. Usefulness of serum IgG4 in the diagnosis and follow up of autoimmune pancreatitis: A systematic literature review and meta-analysis. J Gastroenterol Hepatol; 24(1): 15-36. 2009.
4. Dhall D, Suriawinata AA, Tang LH, Shia J, Klimstra DS. Use of immunohistochemistry for IgG4 in the distinction of autoimmune pancreatitis from peritumoral pancreatitis. Hum Pathol. 2010;41:643-652.
5. M. Tripathi, H S Mudhar, R Start, M S Fernando. IgG4-related disease –a modern mimic of malignancy, Diag Histopat. 2010; 16:484-85.
6. Zen Y, Ishikawa A, Ogiso S, Heaton N, Portmann B. Follicular cholangitis and pancreatitis -clinicopathological features and differential diagnosis of an under-recognized entity. Histopathology. 2012;60:261-269
7. Zen Y, Nakanuma Y. IgG4 Cholangiopathy. Int J Hepatol. 2012;2012:472376
8. Abe H, Morikawa T, Araki A, Shima T, Nakatsu H, Fukayama M, Suzuki Y. IgG4-related periureteral fibrosis presenting as a unilateral ureteral mass. Pathol ResPract.2011;207:712-714
9. Divatia M, Kim SA, Ro JY. IgG4-related sclerosing disease, an emerging entity: a review of a multi-system disease. Yonsei Med J. 2012;53:15-34