

**ISLET 1 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP283)***Rabbit anti-human Islet 1 Monoclonal Antibody (Clone EP283)***Código**                      **EP-12-51833**                      **1ml**

- Diluição recomendada                      :            1:50
- Validade e lote do produto                      :            Ver frasco
- Temperatura de armazenamento                      :            2 à 8°C (não congelar)
- Clone                      :            EP283<sup>3</sup>
- Isotipo Ig                      :            Coelho IgG
- Imunógeno                      :            Peptídeo sintético correspondente a ilhota humana 1.
- Reatividade                      :            RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo                      :            Seção de tecido do pâncreas normal
- Marcação                      :            Nuclear

**Aplicações conhecidas**

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

**Especificações:**

O Islet-1, proteína ISL-1 do realçador do gene da insulina, é uma proteína que nos seres humanos é codificada pelo gene ISL1. Este gene codifica um fator de transcrição contendo dois domínios LIM N-terminais e um domínio homeo C-terminal. A proteína codificada desempenha um papel importante na embriogênese das ilhotas pancreáticas de Langerhans. O ISL1 demonstrou interagir com o receptor de estrogênio alfa. A ilhota-1 produz uma forte coloração nuclear nas ilhotas do pâncreas normal e células tumorais dos tumores neuroendócrinos pancreáticos. Islet-1 foi encontrado para ser um marcador confiável de tumores endócrinos pancreáticos e metástase. Ele mostra uma sensibilidade e especificidade comparáveis como CDX2 como marcador de tumores neuroendócrinos ileais e apendiculares e suas metástases. Um painel de Islet-1, CDX2 e TTF1 pode ser útil na diferenciação carcinomas endócrinos bem diferenciados de origem desconhecida.

**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 seção 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 (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 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 comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

Câmara pressurizada MuscaePlus (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 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](http://www.grupoerviegas.com.br).

**Referências Bibliográficas**

1. Tanizawa Y, et al. Isolation of the human LIM/homeodomain gene islet-1 and identification of a simple sequence repeat polymorphism. Diabetes 1994; 43 (7): 935-41
2. Gay F, et al. The LIM/homeodomain protein islet-1 modulates estrogen receptor functions". Mol. Endocrinol. 2000; 14 (10): 1627-48
3. Schmitt AM, et al. Islet 1 (Isl1) expression is a reliable marker for pancreatic endocrine tumors and their metastases. Am J Surg Pathol. 2008 Mar;32(3):420-5
4. Koo J, Mertens RB, Mirocha JM, Wang HL, Dhall D. Value of Islet 1 and PAX8 in identifying metastatic neuroendocrine tumors of pancreatic origin. Mod Pathol. 2012 Jun;25(6):893-901.
5. Yang Z, Klimstra DS, Hruban RH, Tang LH. Immunohistochemical Characterization of the Origins of Metastatic Well-differentiated Neuroendocrine Tumors to the Liver. Am J Surg Pathol. 2017 Jul;41(7):915-922.

