

NeuN – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Proteína Nuclear Neuronal*Mouse anti-human Neuronal Nuclear Protein (NeuN) Monoclonal Antibody - (Clone A60)***Código** **EP-12-52213** **1ml**

- Diluição recomendada : 1:50
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : A60
- Isotipo Ig : Camundongo IgG 1
- Imunógeno : Núcleos celulares purificados do cérebro do camundongo.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Cerebelo
- 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 anticorpo NeuN (Núcleos NEUronal; clone A60) reconhece especificamente a proteína NeuN específica de neurônio, que se liga ao ADN, que está presente na maioria dos tipos de células neuronais do SNC e do SNP de todos os vertebrados. As distribuições de proteínas NeuN estão aparentemente restritas a núcleos neuronais, perikarya e alguns processos neuronais proximais no cérebro fetal e adulto, embora alguns neurônios não sejam reconhecidos pelo NeuN em todas as idades: INL células da retina, célula horizontal de cajal, células de Purkinje, neurônios do núcleo inferior olivar e dentado, e células ganglionares simpáticas, entre outros. A proteína NeuN detectável imuno-histoquimicamente aparece primeiro nos momentos de desenvolvimento que correspondem à retirada do neurônio do ciclo celular e / ou ao início da diferenciação terminal do neurônio. A imunorreatividade aparece em torno de E9.5 no tubo neural do camundongo e é extensa em todo o sistema nervoso em desenvolvimento por E12.5. Coloração nuclear forte sugere uma função de proteína reguladora nuclear; no entanto, não existem evidências atuais sobre se o antígeno da proteína NeuN tem uma função no citoplasma distal ou se é meramente sintetizado lá antes de ser transportado de volta para o núcleo. Não foi encontrada nenhuma diferença entre proteínas isoladas de núcleos purificados e extrato cerebral inteiro em imunoblots. O anticorpo A60 é um marcador tumoral neuronal amplamente utilizado. NeuN é expresso no componente neuronal de gangliogliomas, ganglioneuromas, doença de Lhermitte-Duclos (gangliocitoma com displasia cerebelar), neurocitomas, em neurônios bem diferenciados e os oligodendrócitos como componente presentes em tumores neuroepiteliais disemбриoplásticos. A expressão em mais de 60% das células em tumores gliais tem sido referenciada em casos isolados. NeuN é frequentemente negativo no componente neuronal dos tumores de células ganglionares, em particular quando é morfológicamente bem diferenciado. Este anticorpo reage de forma cruzada com outras espécies (camundongo rato, porco, etc.)

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 (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 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 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. Mullen RJ, Buck CR, Smith AM. NeuN, a neuronal specific nuclear protein in vertebrates. Development. 116: 201–211. 1992.
2. Wolf HK, Buslei R, Schmidt-Kastner R, et al. NeuN: a useful neuronal marker for diagnostic histopathology. J Histochem Cytochem.; 44:1167–1171. 1996.
3. Wolf HK, Buslei R, Blumcke I, Wiestler OD, Pietsch T. Neural antigens in oligodendrogliomas and dysembryoplastic neuroepithelial tumors. Acta Neuropathol (Berl); 94: 436–443. 1997.
4. Sarnat HB, Nochlin D, Born DE. Neuronal nuclear antigen (NeuN): a marker of neuronal maturation in early human fetal nervous system. Brain Dev; 20: 88–94. 1998.
5. Parker JR, Armstrong DL, Strother D, et al. Antineuronal nuclei immunohistochemical staining patterns in childhood ependymomas. J Child Neurol; 16: 548–552. 2001.
6. Soylemezoglu F, Onder S, Tezel GG, Berker M. Neuronal nuclear antigen (NeuN): a new tool in the diagnosis of central neurocytoma. Pathol Res Pract; 199: 463–468. 2003.