

P57 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (KP10/57P06)

Mouse anti-human p57 kip2 Monoclonal Antibody (Clone KP10 same as 57P06)

Código	EP-12-52353	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	KP10 mesmo que 57P06
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG2b/ kappa
• Imunógeno	:	Proteína p57 humana recombinante.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Placenta
• 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:

A p57 (ou CDKN1C) é um potente inibidor de ligação forte de vários complexos de ciclina G1 e é um regulador negativo da proliferação de células Kip2. O gene que codifica a p57 humana é localizado no cromossomo 11p15.5, uma região implicada em ambos os cânceres esporádicos, tumor de Wilm e síndrome de Beckwith-Wiedemann (BWS), uma síndrome de câncer, tornando-se um candidato supressor de tumor. BWS é caracterizada por numerosas anormalidades de crescimento e um risco aumentado de tumores na infância. Vários tipos de tumores infantis, incluindo tumor de Wilms, carcinoma adrenocortical e rabdomiossarcoma, apresentam uma perda específica de alelos 11p15 maternos, sugerindo que o imprinting genômico desempenha um papel importante. Esta região também contém dois outros genes impressos, fator de crescimento semelhante à insulina II (IGF-II) e H19, ambos parecem estar implicados em neoplasias adrenais. O uso prático do anticorpo p57 reside no diagnóstico diferencial de mola hidatiforme completa (composta apenas de DNA paterno e consequentemente com falta de expressão nuclear no citotrofoblasto e nas células estromais vilosas), na mola hidatiforme incompleta (triploide) e no aborto edematoso. Ilhotas de trofoblasto extraviloso, decíduas maternas e células estromais das vilosidades servem como controles internos em todas as três entidades. O sinciotrofoblasto é negativo em todos os casos.

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 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 Citrato pH6 (Recomendado EP-12-20557/8 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. Kipp BR, Ketterling RP, Oberg TN, Cousin MA, Plagge AM, Wiktor AE, Ihrke JM, Meyers CH, Morice WG, Halling KC, Clayton AC. Comparison of fluorescence in situ hybridization, p57 immunostaining, flow cytometry, and digital image analysis for diagnosing molar and nonmolar products of conception. Am J Clin Pathol. 2010 Feb;133(2):196-204.
2. Pateras IS, Apostolopoulou K, Niforou K, Kotsinas A, Gorgoulis VG. p57KIP2: "Kip"ing the cell under control. Mol Cancer Res. 2009 Dec;7(12):1902-19.
3. Kipp BR, Ketterling RP, Oberg TN, Cousin MA, Plagge AM, Wiktor AE, Ihrke JM, Meyers CH, Morice WG, Halling KC, Clayton AC. Comparison of fluorescence in situ hybridization, p57 immunostaining, flow cytometry, and digital image analysis for diagnosing molar and nonmolar products of conception. Am J Clin Pathol. 2010 Feb;133(2):196-204.
4. Kavanagh E, Joseph B. The hallmarks of CDKN1C (p57, KIP2) in cancer. Biochim Biophys Acta. 2011 Aug;1816(1):50-6.
5. Borriello A, Caldarelli I, Bencivenga D, Criscuolo M, Cucciolla V, Tramontano A, Oliva A, Perrotta S, Della Ragione F. p57(Kip2) and cancer: time for a critical appraisal. Mol Cancer Res. 2011 Oct;9(10):1269-84.
6. John RM, Ainscough JF, Barton SC, Surani MA. Distant cis-elements regulate imprinted expression of the mouse p57(Kip2) (Cdkn1c) gene: implications for the human disorder, Beckwith--Wiedemann syndrome. Hum Mol Genet. 2001 Jul 15;10(15):1601-9.
7. Madhuri TK, Tailor A, Haagsma B, Coley H, Butler-Manuel S. Relevance of immunohistochemical expression of p57kip2 in epithelial ovarian carcinoma- A systematic literature review. J Ovarian Res. 2012 Dec 21;5(1):46.

