EasyPath Diagnósticos

Lipase pancreática – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EPR6275)

Rabbit anti-human Pancreatic lipase Monoclonal Antibody (Clone EPR6275)

Código **EP-12-52403** **1ml**

- Diluição recomendada : 1:50
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : EPR6275
- Isotipo Ig : IgG
- Imunógeno : Péptido sintético correspondendo a resíduos na Lipase Pancreática Humana.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Tecido pâncreas humano
- 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 lipase pancreática é uma enzima de massa molecular de 56kDa secretada ativamente no duodeno pelo pâncreas na presença de sais biliares e colipase. Pertence à família das lipases triglicérides, das quais existem pelo menos três isoenzimas específicas do tecido (pancreáticas, hepáticas, gástricas e linguais) que decompõem as gorduras da dieta, convertendo os triglicerídeos em monoglicerídeos e ácidos graxos livres. A lipase pancreática, juntamente com os sais biliares, favorece a absorção no sistema linfático dos monômeros resultantes da digestão. A lipase pancreática humana é codificada pelo gene PNLIP de 13 exons e mais de 20 kb, localizado na região cromossômica 10q25.3. Em tecidos normais, esse anticorpo identifica células acinares pancreáticas e, em neoplasias, reconhece o carcinoma de células acinares do pâncreas, que expressa esse marcador em mais de 50% dos casos. Por esta razão e integrada em um painel de anticorpos adequados, a lipase pancreática permite a diferenciação do adenocarcinoma acinar do pâncreas de outras malignidades com morfologia similar (especialmente carcinoma neuroendócrino com arquitetura acinar) e estabelecer a origem pancreática de metástases à distância, que em numerosas ocasiões pode ser a primeira manifestação do tumor.

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.

Grupo Erviegas
Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07

Protocolo:
1 - Desparafinização - Estufa 60-65 ℃ 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).

Grupo Erviegas
Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07

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. Davis RC, Diep A, Hunziker W, Klisak I, Mohandas T, Schotz MC, Sparkes RS, Lusis AJ. Assignment of human pancreatic lipase gene (PNLIP) to chromosome 10q24-q26. Genomics. 1991 Dec;11(4):1164-6
2. Lowe ME, Rosenblum JL, Strauss AW. Cloning and characterization of human pancreatic lipase cDNA. J Biol Chem. 1989 Nov 25;264(33):20042-8
3. Sims HF, Jennens ML, Lowe ME. The human pancreatic lipase-encoding gene: structure and conservation of an Alu sequence in the lipase gene family. Gene. 1993 Sep 15;131(2):281-5
4. Yasumoto M, Hamabashiri M, Akiba J, Ogasawara S, Naito Y, Taira T, Nakayama M, Daicho A, Yamasaki F, Shimamatsu K, Ishida Y, Kaji R, Okabe Y, Nakashima O, Ohshima K, Nakashima M, Sata M, Yano H. The utility of a novel antibody in the pathological diagnosis of pancreatic acinar cell carcinoma. J Clin Pathol. 2012 Apr;65(4):327-3

Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07