

## Pré-albumina – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EPR3219)

Rabbit anti-human Prealbumin Monoclonal Antibody (Clone EPR3219)

Código	EP-12-52623	1ml
• Diluição recomendada	:	1:100
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EPR3219
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Peptídeo sintético da pré-albumina humana.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção de tecidos do fígado.
• 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:

Este anticorpo reconhece uma proteína de 16 kDa, um tetrâmero de 127 aminoácidos, identificado como pré-albumina cuja secreção é controlada por um gene localizado na região cromossômica 18q12.1. A pré-albumina, também conhecida como transtirretina (TTR), TBPA ou PALB é uma proteína transportadora de hormônios como a tiroxina (T4) e o retinol (vitamina A). Diferentes formas de amiloidose têm sido descritas: amiloidose sistêmica, que abrange as fases secundária (AA), primária (AL), senil e aquelas associadas à hemodiálise ou casos hereditários. A amiloidose localizada é limitada a um órgão ou tecido e inclui amiloidose cerebral, distrófica (relacionada à idade ou senil); endócrino, localizado ou tumoral (amiloidoma); amiloidose focal e secundária ao mieloma ou plasmocitoma solitário. Cada um é caracterizado pelo depósito específico de uma proteína fibrosa. Até agora, mais de 25 proteínas diferentes foram comprovadas na amiloidose humana. Formas mutadas ou selvagens de TTR contribuem para a formação de depósitos de proteínas fibrosas do amilóide, principalmente em certas formas sistêmicas (determinadas pelos subtipos silvestres) e formas familiares de amiloidose tal como a polineuropatia amilóide familiar e cardiomiopatia (determinada pelas formas mutadas). É uma proteína plasmática sintetizada principalmente no fígado, plexo coróide, epitélio pigmentar da retina, mas com menor expressão em outros locais, incluindo células endócrinas das ilhotas de Langerhans. Este anticorpo pode ser usado para o estudo da amiloidose.

### 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) 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.

Dois 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](http://www.grupoerviegas.com.br).

#### **Referências Bibliográficas**

1. Elghetany MT, Saleem A. Methods for staining amyloid in tissues: a review. *Stain Technol*; 63(4): 201-212. 1988.
2. Bély M, Apáthy A. Histochemical and immunohistochemical differential diagnosis of amyloidosis-a brief illustrated essay and personal experience with Romhányi's method. *Amyloid*; 7(3): 212-217. 2000.
3. C. Cras-Méneur, H. Inoue, Y. Zhou. An expression profile of human pancreatic islet mRNAs by serial analysis of gene expression (SAGE). *Diabetologia*; 47( 2): 284-299. 2004.
4. P. Westermark, M. D. Benson, J. N. Buxbaum. A primer of amyloid nomenclature, *Amyloid*; 14 (3): 179-183. 2007.
5. Westermark GT, Westermark P. Transthyretin and amyloid in the islets of Langerhans in type-2 diabetes. *Exp Diabetes Res*. 2008;2008:429274.
6. Roden AC, Aubry MC, Zhang K, Brady JO, Levin D, Dogan A, Yi ES. Nodular senile pulmonary amyloidosis: a unique case confirmed by immunohistochemistry, mass spectrometry, and genetic study. *Hum Pathol*. 2010;41:1040-1045.
7. Sueyoshi T, Ueda M, Jono H, Irie H, Sei A, Ide J, Ando Y, Mizuta H. Wild-type transthyretin-derived amyloidosis in various ligaments and tendons. *Hum Pathol*. 2011;42:1259-1264.

