

Proteína S100 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (4C4.9)

Mouse anti-human S100 Protein Monoclonal Antibody (Clone 4C4.9)

Código	EP-12-52743	1ml
• Diluição recomendada	:	1:100
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	4C4.9
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG2a
• Imunógeno	:	Proteína S100 de cérebro bovino purificado.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Melanoma ou Schwannoma
• Marcação	:	Citoplasma ou Núcleo 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 S100 pertence à família das proteínas de ligação ao cálcio, como a calmodulina e a troponina C. O S100A é composto por uma cadeia alfa e beta, enquanto o S100B é composto por duas cadeias beta. A proteína S100 também é expressa nas células apresentadoras de antígenos, como as células de Langerhans na pele e as células do retículo interdigitantes no paracórtex dos linfonodos. O anticorpo S100 cora schwannomas, ependimomas, astrogliomas, a maioria dos melanomas e suas metástases. É também característico no tecido adiposo e condróide, neoplasias benignas e malignas. Também pode ser usado como um marcador mioepitelial para o diagnóstico de patologia da mama. Portanto, este anticorpo é útil para a identificação de melanomas malignos, tumores neuroectodérmicos, adipocíticos e condróides. Este anticorpo tem uma reatividade cruzada com fibras musculares lisas que podem ser visíveis em algumas ocasiões.

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 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 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 Muscae Plus (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 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.

Referências Bibliográficas

1. Van Eldik LJ; Griffin WS. S100 beta expression in Alzheimer's disease: relation to neuropathology in brain regions. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1223(3):398-403 (1994).
2. Sheng JG; Mrak RE; Griffin WS. S100 beta protein expression in Alzheimer disease: potential role in the pathogenesis of neuritic plaques. *Journal of Neuroscience Research*. 39(4):398-404 (1994).
3. Matsushima S; Mori M; Adachi Y; Matsukuma A; Sugimachi K. S100 protein positive human breast carcinomas: an immunohistochemical study. *Journal of Surgical Oncology*. 55(2):108-13 (1994).
4. Korabiowska M; Mirecka J; Brinck U; Szuta M; Stypulkowska J; Wiese G; Bartkowski S; Schauer A. Immunohistochemical demonstration of S100 protein in malignant melanomas of the facial skin and oral cavity. *Journal of Nihon University School of Dentistry*. 36(2):117-21 (1994).
5. Chang ES; Wick MR; Swanson PE; Dehner LP. Metastatic malignant melanoma with "rhabdoid" features [see comments]. *American Journal of Clinical Pathology*. 102(4):426-31 (1994).
6. Barrett AW; Scully C. S100 protein in oral biology and pathology. *Journal of Oral Pathology and Medicine*. 23(10):433-40 (1994).
7. Lombardi T; Lock C; Samson J; Odell EW. S100, alpha-smooth muscle actin and cytokeratin 19 immunohistochemistry in odontogenic and soft tissue myxomas. *Journal of Clinical Pathology*. 48(8):759-62 (1995).
8. al-Saleh W; Delvenne P; Arrese JE; Nikkels AF; Pierard GE; Boniver J. Inverse modulation of intraepithelial Langerhans' cells and stromal macrophage/dendrocyte populations in human papillomavirus-associated squamous intraepithelial lesions of the cervix. *Virchows Archiv*. 427(1):41-8 (1995).
9. Sidoroff A; Zelger B; Steiner H; Smith N. Indeterminate cell histiocytosis—a clinicopathological entity with features of both X- and non-X histiocytosis. *British Journal of Dermatology*. 134(3):525-32 (1996).
10. Mrak RE; Sheng JG; Griffin WS. Correlation of astrocytic S100 beta expression with dystrophic neurites in amyloid plaques of Alzheimer's disease. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*. 55(3):273-9 (1996).