

Proteína S100 Beta – Anticorpo Monoclonal anti-humano

Rabbit anti-human S100-Beta Protein Monoclonal Antibody (Clone SP127)

Código	EP-12-52763	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	SP127
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	S100 beta humano recombinante de comprimento total.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção de tecido de cólon ou melanoma.
• Marcação	:	Citoplasma e 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:

As proteínas S100 são um conjunto de 25 pequenas moléculas ácidas com uma massa molecular de 10-12 kDa que são funcionalmente agrupadas em homo ou heterodímeros compostos por duas subunidades, alfa e beta, capazes de se combinarem entre si e com extensa homologia de sequência. Existem até 14 variantes do gene da cadeia alfa, localizado no cromossomo 1q21; ao contrário, existe apenas uma sequência do gene da cadeia beta, localizada no cromossomo 21q22.3, mostrando sua maior especificidade funcional. Na sua forma dimérica, a proteína S100, juntamente com a calmodulina e a troponina C, pertence à família das proteínas de ligação ao cálcio; sua afinidade por esse íon, assim como por outros metais, como o zinco, é notável. É por esta razão que a proteína S100 está envolvida em atividades celulares básicas, tais como difusão de cátions através de membranas lipídicas, montagem de microtúbulos e atividade da RNA polimerase. Nos neurônios, a proteína S100 também regula a interação entre os cromossomos e os sinaptossomas. Dependendo da combinação entre as cadeias alfa e beta simples para formar dímeros e a homologia de suas sequências, existem três formas de proteína S-100: A, com pelo menos 15 subtipos entre A1 e A14, B e G. A proteína S100-B é um homo dímero de cadeia beta de 21 kDa envolvido na regulação de numerosos processos que requerem estimulação de fluxo iônico de cálcio. A proteína S100-B está presente em neurônios, células gliais do sistema nervoso central, células de Schwann e células satélites do sistema nervoso periférico (mas não células perineurais), melanócitos, células mioepiteliais, epitélios glandulares da mama e do rim, células esqueléticas, células musculares e cardíacas, adipócitos e condrócitos. Essa molécula também é expressa em células apresentadoras de antígenos, como as células de Langerhans da pele, e células dendríticas interdigitantes nas áreas de células T do tecido linfóide. Em contraste, a proteína S100-B não está presente nas fibras musculares lisas. Em neoplasias, a proteína S100-B é altamente expressa em tumores dos sistemas nervoso central e periférico e em melanomas, incluindo o melanoma desmoplásico. No entanto, até 4% dos melanomas podem ser negativos contra este anticorpo, sugerindo a necessidade de avaliar esta coloração dentro de um painel mínimo de anticorpos anti-melanoma que inclua pelo menos os marcadores HMB45 e Melan A. Da mesma forma e em comparação com lesões primárias, alguma perda de expressão da proteína S100-B foi observada em lesões de melanoma metastático. A proteína S100-B também é útil no diagnóstico de tumores derivados de cartilagem, tecido adiposo e células reticulares interdigitantes no tecido linfóide, bem como tumores de bainha de nervos periféricos de células granulares, tumores mioepiteliais, paragangliomas (células sustentaculares), PEComas, Doença de Dorfman-Rosai, sarcoma de células claras, cordoma, carcinoma adenoide cístico e casos isolados de sarcoma sinovial e rabiomiossarcoma. Fibroxantoma atípico, sarcomas cardíacos, miofibroblastoma, xantomas e tumores fibrosos solitários são todos negativos para S100-B. Finalmente, a super-expressão alterada do gene da cadeia beta com a super-expressão da proteína S100-B pode ser encontrada na base de algumas das lesões observadas em vários tipos de doenças neurológicas e genéticas, como doença de Alzheimer, síndrome de Down (trissomia 21), epilepsia, esclerose lateral amiotrófica, e diabetes do tipo I, em que um excesso da proteína S100-B tem um potencial efeito neurótico. Nesse sentido, vários testes foram desenvolvidos para determinação sérica deste marcador de dano celular nesses pacientes.

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 - Os melhores resultados para esse produto tem sido obtidos sem a recuperação antigênica.
- 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 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. Aisner DL, Maker A, Rosenberg SA, Berman DM. Loss of S100 antigenicity in metastatic melanoma. *Hum Pathol.* 2005 Sep;36(9):1016-9
2. Le BH, Boyer PJ, Lewis JE, Kapadia SB. Granular cell tumor: immunohistochemical assessment of inhibin-alpha, protein gene product 9.5, S100 protein, CD68, and Ki-67 proliferative index with clinical correlation. *Arch Pathol Lab Med.* 2004 Jul;128(7):771-5
3. Karamchandani JR, Nielsen TO, van de Rijn M, West RB. Sox10 and S100 in the diagnosis of soft-tissue neoplasms. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2012 Oct;20(5):445-50
4. Shidham VB, Qi DY, Acker S, Kampalath B, Chang CC, George V, Komorowski R. Evaluation of micrometastases in sentinel lymph nodes of cutaneous melanoma: higher diagnostic accuracy with Melan-A and MART-1 compared with S-100 protein and HMB-45. *Am J Surg Pathol.* 2001 Aug;25(8):1039-46
5. Sedaghat F, Notopoulos A. S100 protein family and its application in clinical practice. *Hippokratia.* 2008;12(4):198-204.

