

Proteína S100-P - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (16/F5)

Mouse anti-human S100-P Protein Monoclonal Antibody (Clone 16/F5)

Código	EP-12-52773	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	16/f5
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1/k
• Imunógeno	:	-
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Carcinoma ductal pancreático ou seção de tecido placentário.
• 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:

A proteína S100P, ou S100 placentária, que é membro da grande família de proteínas S100, está envolvida no transporte intracelular de Ca²⁺ e, juntamente com as proteínas EZR e PPP5C, participa da formação de microvilosidades nas células epiteliais e estimula a secreção de células apócrinas. Ao contrário dos genes dos outros membros da família de proteínas S100, que co-localizam na região 1q21, a proteína S100P é codificada pelo gene S100P, localizado na região 4p16. A família de proteínas 100 é expressa em uma ampla gama de células, onde desempenha um papel na progressão do ciclo celular e na diferenciação celular. A molécula S100P foi inicialmente identificada na placenta humana em níveis bastante elevados. Patologicamente, o anticorpo contra a proteína S100P mostrou imunorreatividade nuclear ou citoplasmática nuclear em quase todos os adenocarcinomas ductais pancreáticos, enquanto não apresenta coloração nos ductos normais e nos ácinos pancreáticos. Por ambos os motivos, o anticorpo contra a proteína S100P é considerado uma ferramenta útil para o diagnóstico diferencial entre lesões reativas e neoplásicas do pâncreas. No caso do fígado e dos canais biliares, o anticorpo também exibe uma positividade nuclear e citoplasmática acentuada em lesões malignas derivadas de ductos biliares, enquanto o epitélio benigno derivado desses tumores é negativo. Da mesma forma, a detecção de S100P e GATA3 pode ajudar a distinguir carcinomas uroteliais de outras neoplasias genitourinárias, como câncer de próstata e carcinoma de células renais; neste caso, no entanto, e em contraste com o que é observado em lesões ductais biliares e pancreáticas, a expressão de S100P pode ser detectada no urotélio normal. Finalmente, o anticorpo anti-S100P pode ser usado como fator prognóstico em carcinomas pulmonares de células não pequenas, onde a expressão de S100P tem sido associada a metástases a distâncias frequentes e sobrevida curta.

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 - Pode-se realizar a recuperação com Pepsina durante 10 minutos à 37°C ou utilizar a câmara pressurizada - colocar 600ml de água destilada na panela elétrica (Muscae Plus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553 / EasyPath) ou Citrato 10x pH 6,0 (Recomendado EP-12-20558 / 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 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. Schäfer BW, Wicki R, Engelkamp D, Mattei MG, Heizmann CW. Isolation of a YAC clone covering a cluster of nine S100 genes on human chromosome 1q21: rationale for a new nomenclature of the S100 calcium-binding protein family. *Genomics*. 1995 Feb 10;25(3):638-43
2. Lin F, et al. Diagnostic utility of S100P and von Hippel-Lindau Gene Product (pVHL) in Pancreatic Adenocarcinoma-with Implication of their Roles in Early Tumorigenesis. *Am J Surg Pathol*. 2008; 32:78-91.
3. Deng HB, et al. Usefulness of S100P in Diagnosis of Adenocarcinoma of Pancreas on Fine-needle Aspiration Biopsy Specimens. *Am J ClinPathol*. 2008; 129:81-8. CMC37629010 • ES Rev. 1,0 •p. 6
4. Crnogorac-Jurcevic T, et al. Molecular Alterations in Pancreatic Carcinoma: Expression Profiling Shows that Dysregulated Expression of S100 Genes is Highly Prevalent. *J Pathol*. 2003; 201:63-74.
5. Nakata K, et al. S100P is a Novel Marker to Identify Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms. *Human Pathol*. 2010;41:824-31.
6. Higgins JP, et al. Placental S100 (S100P) and GATA3: Markers for Transitional Epithelium and Urothelial Carcinoma Discovered by Complementary DNA microarray. *AJSP*. 2007; 31:673-80.
7. Levy M, et al. S100P, von Hippel-Lindau Gene Product, and IMP3 Serve as a Useful Immunohistochemical Panel in the Diagnosis of Adenocarcinoma on Endoscopic Bile Duct Biopsy. *Human Pathology*. 2010; 41:1210–1219.