

## PAX8 (M) – Anticorpo Monoclonal de Camundongo – Clone (BC12)

<b>Código</b>	<b>EP-12-54361</b>	<b>0.1ml</b>	<b>1:100 – 1:200</b>	<b>Concentrado</b>
	<b>EP-12-54366</b>	<b>6ml</b>	<b>Diluído</b>	<b>Pronto para uso</b>

- Diluição recomendada : 1:100 – 1:200
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : BC12
- Isotipo Ig : IgG1
- Imunógeno : PAX8
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Rim e células renais normais ou carcinoma seroso de ovário
- Marcação : Nuclear

### Aplicações conhecidas

Em Imuno-histoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina.

### Especificações:

PAX8 é um membro do box (PAX) da família de fatores transcricionais. Tipicamente, os genes desta família codificam proteínas que contêm um domínio box pareado, um octapeptídeo, e um homeodomínio tipo pareado. Esta família possui um papel crítico durante o desenvolvimento fetal e crescimento de câncer. PAX8 está envolvido na diferenciação celular renal e desenvolvimento ou disgenesia da tireoide.

PAX8 é expresso em uma grande porcentagem de carcinomas de células renais e cânceres de ovário. Este anticorpo monoclonal de camundongo PAX8 [BC12] foi desenvolvido para marcar epítomos restritos e exibir uma alta especificidade, proporcionando uma coloração mais nítida que o anticorpo policlonal de coelho. Ao contrário do PAX8 policlonal, este anticorpo monoclonal de camundongo não cora células B, não reconhece epítomos de origem pancreática e neuroendócrina em células de estômago e cólon; promovendo uma especificidade superior. A expressão dos antígenos restritos de PAX8 foi observada em tecidos normais de rim, tireoide e cérvix, mas não em ovário normal. PAX8 cora exclusivamente núcleo e funciona bem em tecidos fixados em formalina e incluídos em parafina.

### 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 1 hora, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada
- 2 - Recuperação antigênica - Colocar 600 ml de água destilada na câmara pressurizada (Muscae Plus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath) ou Diva (Biocare), 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.

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 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).

#### **Referência Bibliografia**

1. Tacha D, Zhou D, Cheng L. Expression of PAX8 in Normal and Neoplastic Tissues: A Comprehensive Immunohistochemical Study. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2011 Jan 28. [Epub ahead of print]
2. Lotan TL, Ye H, Melamed J, Wu XR, Shih IM, Epstein JI. Immunohistochemical panel to identify the primary site of invasive micropapillary carcinoma. Am J Surg Pathol. 2009 Jul; 33(7):1037-41.
3. Viktorová T, Babjuk M, Dusková J, Stolz J, Goetz P, Mares J. Expression of PAX2 and PAX8 genes in conventional type of renal carcinoma and their role in the tumor prognosis. Diagn Cytopathol. 2008 Aug; 36(8):568-73.
4. Narlis M, Grote D, Gaitan Y, Boualia SK, Bouchard M. Pax2 and Pax8 regulate branching morphogenesis and nephron differentiation in the developing kidney. J Am Soc Nephrol. 2007 Apr; 18(4):1121-9. Epub 2007 Feb 21.
5. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA 1991; 7(9). Order code M29-P.