

Alpha-1-Antiquimiotripsina - Policlonal Anti-humano.

Rabbit anti-human Alpha-1-Antichymotrypsin Antibody (Polyclonal)

Código	EP-12-50063	1ml
• Diluição recomendada	:	1:100
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	Policlonal
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Alfa-1-antichimiotripsina purificada de soro humano.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Macrófagos nas amígdalas
• 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 reage com a alfa-1-anti-quimiotripsina humana, uma proteína surfactante na fase aguda da inflamação, além de uma serina que inativa de preferência a quimiotripsina, a catepsina G e a quimase. Como uma proteína inibidora da serina protease, ela está próximamente relacionada às placas neuríticas da doença de Alzheimer e em cérebros humanos e de macacos com sinais normais de envelhecimento. A regulação das serina proteases e seus inibidores têm uma importante função no diagnóstico diferencial da patologia neuromuscular. A alfa-1-anti-quimiotripsina liga-se principalmente ao antígeno específico da próstata (PSA), uma serina protease similar à quimiotripsina, para formar um complexo. Além disso, este anticorpo pode ser usado para identificar células hematopoiéticas da série monócito-macrófago e neoplasias derivadas delas.

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 investigador 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 IHC 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 600ml de água destilada na panela elétrica (Muscae Plus/EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath), tampar a panela 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.

Referências Bibliográficas

1. Ishiguro K; Shoji M; Yamaguchi H; Matsubara E; Ikeda M; Kawarabayashi T; Harigaya Y; Okamoto K; Hirai S. Differential expression of alpha 1-antichymotrypsin in the aged human brain. *Virchows Archiv. B, Cell Pathology Including Molecular Pathology.* 64(4):221 (1993).
2. Bjartell A; Bjork T; Matikainen MT; Abrahamsson PA; di Sant'Agnese A; Lilja H. Production of alpha-1-antichymotrypsin by PSAcontaining cells of human prostate epithelium. *Urology.* 42(5):502-10 (1993).
3. Bilak M; Askanas V; Engel WK. Strong immunoreactivity of alpha 1-antichymotrypsin co-localizes with beta-amyloid protein and ubiquitin in vacuolated muscle fibers of inclusion-body myositis. *Acta Neuropathologica.* 85(4):378-82 (1993).
4. Betz P; Nerlich A; Wilske J; Tubel J; Penning R; Eisenmenger W. The immunohistochemical localization of alpha 1-antichymotrypsin and fibronectin and its meaning for the determination of the vitality of human skin wounds. *International Journal of Legal Medicine.* 105(4):223-7 (1993).
5. Castellucci M; Theelen T; Pompili E; Fumagalli L; De Renzis G; Muhlhauser J. Immunohistochemical localization of serineprotease inhibitors in the human placenta. *Cell and Tissue Research.* 278(2):283-9 (1994).
6. Bilak M; Askanas V; Engel WK. Alpha 1-antichymotrypsin is strongly immunolocalized at normal human and rat neuromuscular junctions. *Synapse.* 16(4):280-3 (1994).
7. Leenstra S; Das PK; Troost D; de Boer OJ; Bosch DA. Human malignant astrocytes express macrophage phenotype. *Journal of Neuroimmunology.* 56(1):17-25 (1995).
8. Akaaboune M; Verdier-Sahuque M; Lachkar S; Festoff BW; Hantai D. Serine proteinase inhibitors in human skeletal muscle: expression of beta-amyloid protein precursor and alpha 1-antichymotrypsin in vivo and during myogenesis in vitro. *Journal of Cellular Physiology.* 165(3):503-11 (1995).
9. Igawa M; Urakami S; Shiina H; Ishibe T; Shirane T; Usui T; Chodak GW. Immunohistochemical evaluation of proliferating cell nuclear antigen, prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin in human prostate cancer. *British Journal of Urology.* 77(1):107-12 (1996).