

AFP – Alfa fetoproteína Clone (EP209) - Anticorpo Monoclonal anti-humano*Rabbit anti-human AFP (Alpha-Fetoprotein)– Monoclonal Antibody (Clone EP209)*

Código	EP-12-50083	1ml	Concentrado
	EP-12-50081	0.1	Concentrado
	EP-12-50084	1ml	Pronto para uso
	EP-12-50086	6ml	Pronto para uso

- Diluição recomendada : 1:50 – 1:100
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : EP209
- Isotipo Ig : Coelho IgG
- Imunógeno : Um péptido sintético correspondente a resíduos da proteína AFP humana.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Fígado fetal, hepatocarcinoma ou tumor do saco vitelino.
- 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:

A alfa-fetoproteína (AFP) é a proteína plasmática mais abundante encontrada no feto humano. Acredita-se que seja a forma fetal da albumina sérica. AFP liga-se ao cobre níquel, ácidos graxos e bilirrubina e é encontrado nas formas monomérica, dimérica e trimérica. A alfa-fetoproteína (AFP) é sintetizada pelas células do saco vitelino embrionário, fígado fetal e trato intestinal fetal. Os níveis de AFP diminuem logo após o nascimento. Em tecidos anormais, a expressão de AFP foi demonstrada em carcinoma hepatocelular, hepatóide adenocarcinoma, tumores de células germinativas, e particularmente tumores do saco vitelino, o anticorpo anti-AFP pode ser útil para a identificação de doenças hepáticas neoplásicas ou tais tumores.

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 - Recuperação antigênica - Colocar 600ml de água destilada na câmara pressurizada (MuscaePlus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X Ph8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 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.

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. Nayak NC, Mital I. The dynamics of alpha-fetoprotein and albumin synthesis in human and rat liver during normal ontogeny. *Am J Pathol* 86: 359-74 (1977).
2. Smith CJP, Kelleher PC. *Biochem Biophys Acta* 650: 1-32. (1980).
3. Bosman FT, Giard RW, Nieuwenhuijzen Kruseman AC, Knijnenburg G, Spaander PJ. Human chorionic gonadotrophin and alpha-fetoprotein in testicular germ cell tumours: a retrospective immunohistochemical study. *Histopathology* 4:673-84, (1980).
4. Jacobsen GK, Jacobsen M, Clausen PP. Distribution of tumor-associated antigens in the various histologic components of germ cell tumors of the testis. *Am J Surg Pathol* 5: 257-66, (1981).
5. Uchida T, Shimoda T, Miyata H, Shikata T, Iino S, Suzuki H, Oda T, Hirano K, Sugiura M. Immunoperoxidase study of alkaline phosphatase in testicular tumor. *Cancer* 48: 1455-62, (1981).
6. Richardson RL, Schoumacker RA, Fer MF, Hande KR, Forbes JT, Oldham RK, Greco FA. The unrecognized extragonadal germ cell cancer syndrome. *Ann Int Med* 94: 181-6, (1981).
7. Morinaga T, Sakai M, Wegmann TG, Tamaoki T. Primary structures of human alpha-fetoprotein and its mRNA. *PNAS* 80: 4604-8, (1983).
8. Imoto M, Nishimura D, Fukuda Y, Sugiyama K, Kumada T, Nakano S. Immunohistochemical detection of alpha-feto protein, carcinoembryonic antigen, and ferritin in formalin-paraffin sections from hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 80: 902-6, (1985).
9. Koelma IA, Nap M, Huitema S, Krom RA, Houthoff HJ. Hepatocellular carcinoma, adenoma, and focal nodular hyperplasia. Comparative histopathologic study with immunohistochemical parameters. *Arch Pathol Lab Med* 110: 1035-40, (1986).
10. Wick MR, Swanson PE, Manivel JC. Placental-like alkaline phosphatase reactivity in human tumors: an immunohistochemical study of 520 cases. *Hum Pathol* 18: 946-54, (1987).