

## Anexina 1 - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (29)

Mouse anti-human Annexin 1 Monoclonal Antibody (Clone 29)

Código	EP-12-50133	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	29
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG
• Imunógeno	:	Aminoácidos 1-346 da anexina bovina
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Amígdala ou baço
• Marcação	:	Citoplasmático

### 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 anexina I (também conhecida como lipocortina-1 ou alpaictina II) é uma proteína de 38 kDa que faz parte de uma família de proteínas de ligação a fosfolípidos dependentes de cálcio. Os membros dessa família compartilham um domínio central comum, mas cada um possui uma cauda N-terminal única que transmite sua especificidade funcional. Acredita-se que a fosforilação dessa região na anexina I regula suas funções. A anexina I tem sido implicada na regulação da agregação de vesículas fosfolipídicas, mediando a resposta inflamatória e inibindo a atividade de fosfolipase A2. A detecção imunocitoquímica da Anexina I representa um método simples e altamente sensível e específico (100%) para o diagnóstico de leucemia de células pilosas. Foi relatado que a Anexina A1 é superexpressa em carcinomas de mama, carcinoma hepatocelular, adenomas pancreáticos e hipofisários e regulada negativamente em carcinomas esofágico, endometrial e prostático.

### 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 - Desparafinação - 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 (MuscaePlus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X 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 desparafinar, 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.

Dois séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCENDENTE: para desparafinar 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).

#### Referências Bibliográficas

1. Masaki T, Tokuda M, Ohnishi M, Watanabe S, Fujimura T, Miyamoto K, Itano T, Matsui H, Arima K, Shirai M, Maeba T, Sogawa K, Konishi R, Taniguchi K, Hatanaka Y, Hatase O, Nishioka M. Enhanced expression of the protein kinase substrate annexin in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology*; 24:72-81. 1996.
2. Rand JH. The annexinopathies: a new category of diseases. *Biochim. Biophys. Acta*; 1498: 169-173. 2000
3. Rothhut B. Participation of annexins in protein phosphorylation. *Cell Mol. Life Sci.* 1997; 53; 522–526.
4. Ahn SH, Sawada H, Ro JY, Nicolson GL. Differential expression of annexin I in human mammary ductal epithelial cells in normal and benign and malignant breast tissues. *Clin Exp Metastasis*; 15: 151-156. 1997.
5. Paweletz CP, Ornstein DK, Roth MJ, Bichsel VE, Gillespie JW, Calvert VS, Vocke CD, Hewitt SM, Duray PH, Herring J, Wang QH, Hu N, Linehan WM, Taylor PR, Liotta LA, Emmert-Buck MR, Petricoin EF 3rd. Loss of annexin I correlates with early onset of tumorigenesis in esophageal and prostate carcinoma. *Cancer Res*; 60: 6293-6297. 2000.
6. Da J, Meng X, Wang P, Yang Z, Zhu Y. Significance on expressions of Annexin-I and its correlative gene proteins in endometrial hyperplasia, atypical hyperplasia and endometrial carcinoma. *Zhonghua Binglixue Zazhi*; 30: 256-259.2001.
7. Kang JS, Calvo BF, Maygarden SJ et al. Dysregulation of annexin I protein expression in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer. *Clin Cancer Res*; 8: 117-123. 2002.
8. Xin W, Rhodes DR, Ingold C, Chinnaiyan AM, Rubin MA. Dysregulation of the annexin family protein family is associated with prostate cancer progression. *Am J Pathol*; 162: 255-261. 2003.
9. Falini B, Tiacci E, Liso A, Basso K, Sabattini E, Pacini R, Foa R, Pulsoni A, Dalla Favera R, Pileri S. Simple diagnostic assay for hairy cell leukaemia by immunocytochemical detection of annexin A1 (ANXA1). *Lancet*; 363(9424): 1869-1870. 2004.
10. Mulla A, Christian HC, Solito E, Mendoza N, Morris JF, Buckingham JC. Expression, subcellular localization and phosphorylation status of annexins 1 and 5 in human pituitary adenomas and a growth hormone-secreting carcinoma. *Clin Endocrinol*; 60: 107-119. 2004.
11. Patton K T, Chen H M, Joseph L & Yang X J. Decreased annexin I expression in prostatic adenocarcinoma and in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Histopathology*; 47: 597-601. 2005.