Ciclina D1 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP12)

Rabbit anti-human CyclinD1 Monoclonal Antibody (Clone EP12)

Código	**EP-12-51053**	**1ml**	**Concentrado**
	EP-12-51051	**0.1ml**	**Concentrado**
	EP-12-51054	**1ml**	**Pronto para uso**
	EP-12-51056	**6ml**	**Pronto para uso**

- Diluição recomendada : 1:50
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8ºC (não congelar)
- Clone : EP12
- Isotipo Ig : Coelho IgG
- Imunógeno : Peptídeo sintético correspondente a resíduos próximos ao terminal C da proteína Ciclina D1 humana.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Células endoteliais, células do manto linfoma
- Marcação : 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 ciclina D1 pertence à família Ciclina D. A ciclina D1 é necessária para a transição do ciclo celular G1 / S. A amplificação ou superexpressão da ciclina D1 desempenha um papel crucial no desenvolvimento de vários cânceres humanos, incluindo o câncer da mama, câncer de cólon, melanoma, câncer de próstata e linfoma. O anticorpo Ciclina D1 é útil para diferenciar linfomas celulares. Outras neoplasias linfóides, como leucemia e mieloma de células pilosas, também podem expressar Ciclina D1. Os anticorpos monoclonais de coelho para a ciclina D1 apresentaram a sensibilidade mais elevada para detectar este antigénio em tecido embebido em parafina fixado com formalina, em comparação com vários outros clones.

Armazenagem e estabilidade:

Armazenar entre 2ºC e 8ºC, 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.

Grupo Erviegas
Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07

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 (Muscae Plus / 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 20ºC 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 horizontal, 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).

Grupo Erviegas
Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07

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. E. K.-H. Han, S.-C. Ng, N. Arber, M. Begemann and I. B. Weinstein. Roles of cyclin D1 and related genes in growth inhibition, senescence and apoptosis. Apoptosis. 4: 213–219 (1999).
2. Hui P, Howe JG, Crouch J, Nimmakayalu M, Qumsiyeh MB, Tallini G, Flynn SD, Smith BR.Real-time quantitative RT-PCR of cyclin D1 mRNA in mantle cell lymphoma: comparison with FISH and immunohistochemistry. Leuk Lymphoma. 44:1385-94 (2003).
3. Stendahl M, Kronblad A A, Ryden L, Emdin S, Bengtsson NO, Landberg G Cyclin D1 overexpression is a negative predictive factor for tamoxifen response in postmenopausal breast cancer patients. Br J Cancer. 90:1942-8 (2004).
4. Mhawech P, Greloz V, Oppikofer C, Szalay-Quinodoz I, Herrmann F.Expression of cell cycle proteins in T1a and T1b urothelial bladder carcinoma and their value in predicting tumor progression. Cancer. 100: 2367-75 (2004).
5. Hong A, Davies S, Stevens G, Lee CS.Cyclin D1 overexpression in AIDS-related and classic Kaposi sarcoma. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 12:26-30 (2004).

Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07