

Ciclina E1 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP126)

Rabbit anti-human Cyclin E1 Monoclonal Antibody (Clone EP126)

Código	EP-12-51063	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP126 ³
• Isotipo Ig	:	IgG
• Imunógeno	:	Proteína recombinante correspondente aos resíduos da proteína humana ciclina E.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção de tecido de amígdala ou placenta.
• Marcação	:	Nuclear

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 proteína humana ciclina E. Ciclinas do tipo E (ciclina E1 e ciclina E2) são expressas durante a fase final do G1 do ciclo celular e até o final da fase S. A atividade da ciclina E é limitada pela passagem das células através do ponto de restrição "R", que marca um "ponto de não retorno" para as células que entram em divisão a partir de um estado quiescente (G0) ou através das fases G1 e S. A expressão da ciclina E é regulada principalmente pela transcrição gênica por membros da família dos fatores de transcrição E2F e pela degradação através da via catabólica do proteossoma. A ciclina E liga e ativa a Cdk2-quinase e, através da fosforilação do substrato da quinase, as chamadas proteínas de bolso, o complexo ciclina / Cdk2 regula a entrada na fase S iniciando uma cascata de eventos que permite a expressão específica da fase S genes. Além disso, a ciclina E desempenha um papel direto no início da replicação do DNA e no controle da estabilidade genômica e centrossoma. A superexpressão da ciclina E encurta a fase G1 do ciclo celular, acelerando a progressão para a fase S. Altos níveis de expressão da ciclina E têm sido associados ao início e progressão de diferentes neoplasias humanas, particularmente câncer de mama, leucemias e linfomas, entre outros.

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 seção 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 - Desparafinação - 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 Citrato pH6 (Recomendado EP-12-20557/8 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 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 horizontal, 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.

Referências Bibliográficas

1. Koff A, Cross F, Fisher A, et al..Human cyclin E, a new cyclin that interacts with two members of the CDC2 gene family. Cell. 66: 1217-1228 (1991).
2. Dulic V, Lees E and Reed S I. Association of human cyclin E with a periodic G 1-S phase protein kinase. Science. 257: 1958-1961 (1992).
3. Keyomarsi K and Pardee A B. Redundant cyclin overexpression and gene amplification in breast cancer cells. Proc.Natl.Acad.Sci. 90: 1112-1116 (1993).
4. Sewing A, Röncke V, Bürger C, et al..Alternative splicing of human cyclin E. Journal of Cell Science.107: 581-588 (1994).
5. Ohtsubo M, Theodoras A M, Schumacher J, et al..Human cyclin E,a nuclear protein essential for the G 1-to-S phase transition. Molecular and Cellular Biology.15: 2612-2624 (1995).
6. Hayashi H, Ito T, Yazawa T, et al..Reduced expression of p27/Kip1 is associated with the development of pulmonary adenocarcinoma. Journal of Pathology. 192 :26-31 (2000).
7. Weaver E J, Kovatich A J and Bibbo M. Cyclin E expression and early cervical neoplasia in ThinPrep specimens. A feasibility study.Acta. Cytol. 44: 301-304 (2000).
8. Camacho F I, García J F, Sánchez-Verde L, et al..Unique phenotypic profile of monocytoid B cells. American Journal of Pathology.158: 1363-1369 (2001).
9. Moroy T, Geisen C. Cyclin E. Int J Biochem Cell Biol. 36: 1424-39 (2004).

