

Herpes Simplex Virus II – Anticorpo Policlonal anti-humano

Rabbit anti-human Herpes Simplex Virus II Antibody (Polyclonal)

Código	EP-12-51663	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	Policlonal
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	-
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Tecido infectado (HSV II)
• Marcação	:	Citoplasma e Nucleo celular

Aplicações conhecidas

Em Imunohistoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina. Não testado em tecidos congelados e técnicas de western-blotting.

Especificações:

Os vírus herpes tipo 1 e 2 (HSV-1 e HSV-2) pertencem à família dos herpesvídeos. Seu genoma consiste em uma molécula dupla linear de DNA de aproximadamente 100.000 kD, codificando mais de 75 produtos gênicos. A homologia entre a estrutura genômica do HSV-1 e 2 é de aproximadamente 50%, de modo que enquanto a maioria dos polipéptidos codificados para cada tipo de vírus do herpes têm uma estrutura semelhante e estão antigenicamente relacionados, existem numerosas proteínas de ambos os vírus que condicionam respostas particulares do sistema imunológico do hospedeiro e permitem sua diferenciação sorológica e imuno-histoquímica. O anticorpo monoclonal aqui descrito reage com o vírus herpes simplex tipo 2 e é útil na detecção de lesões induzidas por HSV II. Em altas concentrações, foi observada reatividade cruzada contra algumas cepas do vírus varicela zoster. O anticorpo não reage contra culturas de vírus CMV ou Epstein-Barr.

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. Estes incluem, mas não estão limitados a: fixação, método de recuperação com calor, tempos de incubação, espessura do corte do tecido e kit de detecção usado. Devido a sensibilidade superior destes reagentes únicos, a recomendação dos tempos de incubação e títulos enumerados não são aplicáveis para outros sistemas de detecção, pois os resultados podem variar. As recomendações da bula e protocolos estão baseados com o uso exclusivo dos produtos EasyPath. É de responsabilidade do pesquisador determinar as condições ideais.

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 500ml 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 10 minutos em 110°C, conforme pré-programado, esfriar em temperatura ambiente por 20 minutos no próprio tampão.

3 - Bloqueador de Peroxidase (Recomendado EP-11-20521/2/3 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.

4 - Bloqueador de Proteína (Recomendado EP-12-20531/2/3 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.

5 - Anticorpo primário por 30 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.

6 - Sistema de Detecção (Recomendado EP-12-20501/2/3/4/5/6 - EasyLink One EasyPath) por 30 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.

7 - DAB (Recomendado EP-12-20541/2/3/5 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath), depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.

8 - Hematoxilina (Recomendado EP-11-20571/3 - EasyPath) por 1 minuto e lavar em água corrente por 1 minuto.

9 - Bateria de álcool e xilol

10 - 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 coloração horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05021.

Câmara pressurizada MuscaePlus (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 maiores informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site www.grupoerviegas.com.br.

Referências Bibliográficas

1. Schenck P, Pietschmann S, Gelderblom H, et al.. Monoclonal antibodies against Herpes simplex virus type 1-infected nuclei defining and localising the ICP8 protein, 65k DNA-binding protein and polypeptides of the ICP35 family. J. Gen. Virol. 69: 99-111 (1988).
2. Li Y, Hidaka Y, Kino Y, et al.. Seroepidemiology of herpes simplex virus type 1 in Yanji, Jilin, China. Microbiol. Immunol. 34, 6: 551-555 (1990).
3. Martin JR, Holt RK, Langston C, Gilden DH, Richardson EP Jr, Manz HJ, Singer DB. Type-specific identification of herpes simplex and varicella-zoster virus antigen in autopsy tissues. Hum Pathol. 22:75-80 (1991).
4. Wilson P, Cropper L M, Patt R, et al.. Production of herpes simplex virus fluorescein labelled typing reagents. J. of Virol. Methods. 45: 19-26 (1993).
5. Vago L, Nebuloni M, Sala E, Cinque P, Bonetto S, Isella A, Ottoni L, Crociati A, Costanzi G. Coinfection of the central nervous system by cytomegalovirus and herpes simplex virus type 1 or 2 in AIDS patients: autopsy study on 82 cases by immunohistochemistry and polymerase chain reaction. Acta Neuropathol (Berl). 92: 404-408 (1996).