

IMP 3 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP286)

Rabbit anti-human IMP 3 Monoclonal Antibody (Clone EP286)

Código	EP-12-51783	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP286
• Isotipo Ig	:	IgG
• Imunógeno	:	Um péptido sintético correspondente a proteína humana IMP-3
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Fígado fetal para tecido normal e carcinoma esofágico ou seminoma para tecido anormal.
• 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:

O IMP-3, conhecido como proteína 3 de ligação ao mRNA do fator de crescimento 2 semelhante à insulina (IGF-II), é uma proteína oncofetal que estabiliza o mRNA do IGF-II para o tráfico e desempenha um papel importante no crescimento e migração celular. Essa proteína de 65-70 kDa é expressa normalmente em tecidos em desenvolvimento durante a embriogênese inicial em uma variedade de tecidos fetais, incluindo fígado, rim pulmonar, timo e placenta, mas em níveis baixos ou indetectáveis em tecidos adultos normais. Estudos recentes demonstraram a expressão de IMP-3 em vários tumores malignos do pulmão, trato gastrointestinal, fígado, endométrio e bexiga, enquanto indetectáveis em tecidos benignos adjacentes. O IMP-3 pode ter um papel crítico na proliferação tumoral, invasão e metástase, e tem sido sugerido como um marcador independente para mau prognóstico em pacientes com carcinomas de células claras.

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 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 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 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 desparafinação 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. Müller-Pillasch F, Lacher U, Wallrapp C, Micha A, Zimmerhackl F, Hameister H, Varga G, Friess H, Büchler M, Beger HG, Vila MR, Adler G, Gress TM. Cloning of a gene highly overexpressed in cancer coding for a novel KH-domain containing protein. *Oncogene*. 1997 Jun 5;14(22):2729-33
2. Nielsen J, Christiansen J, Lykke-Andersen J, Johnsen AH, Wewer UM, Nielsen FC. A family of insulin-like growth factor II mRNA-binding proteins represses translation in late development. *Mol Cell Biol*. 1999 Feb;19(2):1262-70
3. Monk D, Bentley L, Beechey C, Hitchins M, Peters J, Preece MA, Stanier P, Moore GE. Characterisation of the growth regulating gene IMP3, a candidate for Silver-Russell syndrome. *J Med Genet*. 2002 Aug;39(8):575-81
4. Jiang Z, Chu PG, Woda BA, Rock KL, Liu Q, Hsieh CC, Li C, Chen W, Duan HO, McDougal S, Wu CL. Analysis of RNA-binding protein IMP3 to predict metastasis and prognosis of renal-cell carcinoma: a retrospective study. *Lancet Oncol*. 2006 Jul;7(7):556-64
5. Hoffmann NE, Sheinin Y, Lohse CM, Parker AS, Leibovich BC, Jiang Z, Kwon ED. External validation of IMP3 expression as an independent prognostic marker for metastatic progression and death for patients with clear cell renal cell carcinoma. *Cancer*. 2008 Apr 1;112(7):1471-9
6. Li D, Yan D, Tang H, Zhou C, Fan J, Li S, Wang X, Xia J, Huang F, Qiu G, Peng Z. IMP3 is a novel prognostic marker that correlates with colon cancer progression and pathogenesis. *Ann Surg Oncol*. 2009 Dec;16(12):3499-506
7. Walter O, Prasad M, Lu S, Quinlan RM, Edmiston KL, Khan A. IMP3 is a novel biomarker for triple negative invasive mammary carcinoma associated with a more aggressive phenotype. *Hum Pathol*. 2009 Nov;40(11):1528-33
8. Hao S, Smith TW, Chu PG, Liu Q, Ok CY, Woda BA, Lu D, Lin P, Wang SA, Dresser K, Rock KL, Jiang Z. The oncofetal protein IMP3: a novel molecular marker to predict aggressive meningioma. *Arch Pathol Lab Med*. 2011 Aug;135(8):1032-6
9. Sitnikova L, Mendese G, Liu Q, Woda BA, Lu D, Dresser K, Mohanty S, Rock KL, Jiang Z. IMP3 predicts aggressive superficial urothelial carcinoma of the bladder. *Clin Cancer Res*. 2008 Mar 15;14(6):1701-6