

INI-1 (BAF47/SNF5) - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clonal (25/BAF47)

Mouse anti-human INI-1 (BAF47/SNF5) Monoclonal Antibody (Clone 25/BAF47)

Código	EP-12-51803	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	25/BAF47
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG2a
• Imunógeno	:	Amino ácidos 257-359 de camundongo BAF47.
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Amígdala, cólon
• 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:

Os complexos SWI / SNF facilitam a ativação do gene e a ligação do fator de transcrição, alterando as estruturas repressivas da cromatina de maneira dependente do ATP. Em mamíferos, os complexos SWI / SNF estão presentes em múltiplas formas que incluem 9-12 fatores associados a BRG1 (BAFs) por complexo. Estas proteínas BAF variam em peso molecular de 47 a 250 kDa. O ARNm de BAF47 / SNF5 é amplamente expresso em linhas celulares e tecidos, e o gene BAF47 / SNF5 está mutado em muitos tumores humanos. Este último é indicativo de um papel supressor de tumor para BAF47 / SNF5. Além disso, os camundongos com deficiência de BAF47 morrem precocemente na embriogênese, enquanto os camundongos heterozigotos BAF47 / SNF5 apresentam uma variedade de tumores nos tecidos moles da cabeça e do pescoço. O BAF47 / SNF5 também se liga à integrase do HIV-1 e estimula a atividade de união do DNA mediada pela integrase. Assim, o BAF47 / SNF5 é um componente dos complexos SWI / SNF que pode ser crítico para o desenvolvimento normal e supressão tumoral, mas também pode ser uma proteína utilizada para a integração do DNA viral no DNA do hospedeiro. Expressão em tecidos normais é onipresente. No tecido tumoral, a perda da expressão proteica do gene SMARCB1 / INI1 foi observada pela primeira vez em todos os tumores rabdóides malignos da infância de diferentes localizações (tecidos moles, rins e SNC) e nos carcinomas medulares do rim. Também a perda de expressão é observada em 50% dos sarcomas sinoviais, alguns condrossarcomas mixoides e carcinomas mioepiteliais, quase todos os sarcomas epitelioides (variantes proximais e convencionais) e 50% dos tumores malignos da placa dos nervos periféricos, todos apresentando morfologia rabdóide. Perda de expressão imuno-histoquímica também é observada em casos de cordoma pouco diferenciado. O anticorpo é útil na diferenciação de tumores rabdóides de outros tumores com morfologia semelhante ao tumor desmoplásico de células redondas, o rabiomiossarcoma e o tumor de Wilms não mostram perda de expressão do INI1. O anticorpo também é útil para confirmar o diagnóstico de carcinoma medular e descartar o possível carcinoma urotelial da pelve renal ou outros carcinomas do rim com expressão para o INI1. Manteve coloração na maioria dos carcinomas, angiosarcoma epitelióide, mesoteliomas, melanomas e outros tumores ou lesões reativas (granulomas) de morfologia epitelióide tornam este anticorpo útil no diagnóstico do sarcoma epitelióide.

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 - 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 (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 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 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 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 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- Kohashi K, Oda Y, Yamamoto H, Tamiya S, Matono H, Iwamoto Y, Taguchi T, Tsuneyoshi M. Reduced expression of SMARCB1/INI1 protein in synovial sarcoma. *Mod Pathol*; 23: 981-990. 2010.
- 2- Mobley BC, McKenney JK, Bangs CD, Callahan K, Yeom KW, Schneppenheim R, Hayden MG, Cherry AM, Gokden M, Edwards MS, Fisher PG, Vogel H. Loss of SMARCB1/INI1 expression in poorly differentiated chordomas. *Acta Neuropathol*; 120: 745-753. 2010.
- 3- Rousseau G, Noguchi T, Bourdon V, Sobol H, Olschwang S. SMARCB1/INI1 germline mutations contribute to 10% of sporadic schwannomatosis. *BMC Neurol*; 11: 9. 2011.