

Anti-PAX8 – Anticorpo Monoclonal – Clone (MD-50/MRQ-50)

Mouse Anti-PAX8 Monoclonal Antibody (Clone MD-50 also known as MRQ-50)

Código	EP-12-52463	1ml	Concentrado
• Diluição recomendada	:	1:50	
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco	
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)	
• Clone	:	MD-50 também conhecido como MRQ-50	
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG	
• Imunógeno	:	-	
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)	
• Controle positivo	:	Tube de Falópio, rim	
• 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:

A proteína PAX 8 é um fator de transcrição e é um membro da família PAX que, caracteristicamente, contém um domínio pareado tipo "caixa". O PAX 8 é um fator importante para o desenvolvimento embriológico da tireóide, do sistema mülleriano, dos rins e do trato urinário superior. A PAX 8 continua a ser expressa no tecido tireoidiano adulto e é detectada no epitélio renal normal, em todos os segmentos dos túbulos renais, desde o túbulo proximal até a papila renal e o epitélio parietal da cápsula de Bowman. Um sinal nuclear intenso de PAX8 está presente em: tumores da tireoide, carcinomas de células renais de células claras (CRCC), CCRs sarcomatóides, oncocitomas renais, carcinomas renais cromofóbicos e carcinomas medulares renais; também carcinomas ovarianos serosos de alto grau. neoplasias epiteliais ovarianas não serosas, lesões epiteliais cervicais, adenocarcinomas do endométrio e um subgrupo de carcinomas do timo também podem ser positivos. A positividade fraca e focal pode ocorrer em casos muito raros de carcinoma da bexiga urotelial, carcinoma de células escamosas, adenocarcinomas do esôfago, pâncreas, colangiocarcinomas, tumores ovarianos, células de Sertoli-Leydig, tumores estromais do cordão sexual ovariano, tumores testiculares mistos de células germinativas e carcinomas de células acinares. Não foi observada coloração de PAX8 nos carcinomas da mama, adenocarcinomas e carcinomas de células pequenas do pulmão, na maioria dos tumores gastrointestinais (cólon, estômago), tumores da próstata, fígado, carcinomas da glândula supra-renal e carcinomas da cabeça e pescoço.

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 (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 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 Muscae Plus (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. Nikiforova MN, Biddinger PW, Caudill CM, Kroll TG, Nikiforov YE. PAX8-PPARgamma rearrangement in thyroid tumors: RT-PCR and immunohistochemical analyses. *Am J Surg Pathol*; 26(8):1016-1023. 2002.
2. Di Palma T, Nitsch R, Mascia A, Nitsch L, Di Lauro R, Zannini M. The paired Domain-containing factor Pax8 and the homeodomain-containing factor TTF-1 directly interact and synergistically activate transcription. *J. Bio Chem*; 278(5): 3395-3402. 2003.
3. Zhang P, Zuo H, Nakamura Y, Nakamura M, Wakasa T, Kakudo K. Immunohistochemical analysis of thyroid-specific transcription factors in thyroid tumors. *PatholInt*; 56: 240-245. 2006.
4. Bowen NJ, Logani S, Dickerson EB, Kapa LB, Akhtar M, Benigno BB, McDonald JF. Emerging roles for PAX8 in ovarian cancer and endosalpingeal development. *Gynecol oncol*; 104 (2):331-7. 2007.
5. Nonaka D, Tang Y, Chiriboga L, Rivera M, Ghossein R. Diagnostic utility of thyroid transcription factors Pax8 and TTF-2 (Fox E1) in thyroid epithelial neoplasms. *Mod. Pathol*; 21: 192-200. 2008.
6. Nonaka D, Chiriboga L, Soslow RA. Expression of PAX8 as a useful marker in distinguishing ovarian carcinomas from mammary carcinomas. *Am J Surg Pathol*; 32 (10):1566-71. 2008.
7. Lotan TL, Ye H, Melamed J, Wu XR, Shih leM, Epstein JI. Immunohistochemical panel to identify the primary site of invasive micropapillary carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 33(7):1037-1041. 2009.
8. Tong GX, Yu WM, Beaubier NT, Weeden EM, Hamele-Bena D, Mansukhani MM, O'Toole KM. Expression of PAX8 in normal and neoplastic renal tissues: an immunohistochemical study. *Modern Pathology*; 22: 1218-1227. 2009.
9. Laury AR, Perets R, Piao H, Krane JF, Barletta JA, French C, Chirieac LR, Lis R, Loda M, Hornick JL, Drapkin R, Hirsch MS. A comprehensive analysis of PAX8 expression in human epithelial tumors. *Am J Surg Pathol*; 35(6): 816-826. 2011.