

Proteína S100-A1 – Anticorpo Monoclonal anti-humano

Rabbit anti-human S100-A1 Protein Monoclonal Antibody (Clone EP184)

Código	EP-12-52753	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP184
• Isotipo Ig	:	IgG
• Imunógeno	:	Peptídeo sintético correspondente a resíduos da proteína humana S100A1.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção de tecido de miocárdio, músculo esquelético ou carcinoma de células renais.
• 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:

A proteína S100-A1 pertence à família de proteínas S100, um conjunto de 25 pequenas moléculas ácidas com uma massa molecular de 10-12 kDa que são funcionalmente agrupadas em homo ou heterodímeros compostos de duas subunidades, alfa e beta, com extensa homologia de seqüência e capaz de combinar uns com os outros. Existem até 14 variantes do gene da cadeia alfa, localizado no cromossomo 1q21; ao contrário, existe apenas uma seqüência do gene da cadeia beta, localizada no cromossomo 21q22.3, mostrando sua maior especificidade funcional. Dependendo da combinação entre as cadeias alfa e beta e a homologia de suas seqüências, existem três formas de proteína S-100: A, com pelo menos 15 subtipos entre A1 e A15, B e G. Na sua forma dimérica, as proteínas S100, juntamente com a calmodulina e a troponina C, pertencem à família das proteínas de ligação ao cálcio; sua afinidade por esse íon, assim como por outros metais, como o zinco, é notável. É por essa razão que a proteína S100 está envolvida em numerosas atividades celulares básicas, tais como difusão de cátions através de membranas lipídicas, montagem de microtúbulos e regulação da atividade da RNA polimerase. Nos neurônios, a proteína S100 também regula a interação entre cromossomos e sinaptossomas. Quanto à proteína S100A1, seu papel mais importante é regular a contratilidade miocárdica. Em tecidos normais, observa-se a expressão da proteína S100-A1 no sarcolema do músculo cardíaco e do músculo esquelético, em menor proporção no último; Da mesma forma, esta proteína é encontrada no túbulo renal e nas células cerebrais. Não é expresso em outros tecidos. Em neoplasias, a expressão da proteína S100-A1 tem sido investigada predominantemente na patologia de tumores renais, sendo importante para o diagnóstico de tumores oncocíticos, oncocitomas e carcinomas papilíferos oncocíticos, e permite o diagnóstico diferencial com carcinomas cromofóbicos, especialmente sua variante eosinofílica, não expressa essa proteína. Por essa razão, a proteína S100-A1, juntamente com a citoqueratina 7, a vimentina e o c-kit (CD117) foram incluídas no painel ideal para o diagnóstico de oncocitomas renais. Adicionalmente, e em comparação com o urotélio normal, que pode exibir uma coloração muito ligeira, os adenomas nefrogênicos apresentam intensa coloração citoplásmica e / ou nuclear / citoplásmica. Por todas as razões acima, a proteína A1 S100, juntamente com PAX8, p63, PSA e CEA, é um marcador altamente sensível e específico para o diagnóstico de adenomas nefrogênicos, tornando-se um marcador útil no diagnóstico diferencial de urina masculina e tumores do sistema genital, incluindo adenocarcinomas prostáticos, que são regularmente negativos para esta proteína. A proteína S100-A1 também é útil no diagnóstico diferencial entre os nevus melanocíticos displásicos e o melanoma maligno, com ligeira coloração no primeiro e coloração mais intensa no último, em contraste com a proteína S100-B, que tende a apresentar maior expressão em lesões de nevo, exceto em áreas de melanoma com alta proliferação. Finalmente, em ambos os carcinomas endometriais e ovariano, a superexpressão da proteína S100-A1 é um indicador de pior prognóstico.

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 - 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.

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 mais informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site www.grupoerviegas.com.br.

Referências Bibliográficas

1. Bi H, Yang Y, Huang J, Li Y, Ma C, Cong B. Immunohistochemical detection of S100A1 in the postmortem diagnosis of acute myocardial infarction. *Diagn Pathol*. 2013 May 17;8:84.
2. DeRycke MS, Andersen JD, Harrington KM, Pambuccian SE, Kalloger SE, Boylan KL, Argenta PA, Skubitz AP. S100A1 expression in ovarian and endometrial endometrioid carcinomas is a prognostic indicator of relapse-free survival. *Am J Clin Pathol*. 2009 Dec;132(6):846-56.
3. Quinones W, Ziober A, Yao Y, Bing Z. Immunohistochemical markers for the differential diagnosis of nephrogenic adenomas. *Ann Diagn Pathol*. 2013 Feb;17(1):41-4.
4. Kuroda N, Kanomata N, Yamaguchi T, Imamura Y, Ohe C, Sakaida N, Hes O, Michal M, Shuin T, Lee GH. Immunohistochemical application of S100A1 in renal oncocytoma, oncocytic papillary renal cell carcinoma, and two variants of chromophobe renal cell carcinoma. *Med Mol Morphol*. 2011 Jun;44(2):111-5.
5. Carvalho JC, Wasco MJ, Kunju LP, Thomas DG, Shah RB. Cluster analysis of immunohistochemical profiles delineates CK7, vimentin, S100A1 and C-kit (CD117) as an optimal panel in the differential diagnosis of renal oncocytoma from its mimics. *Histopathology*. 2011 Jan;58(2):169-79.
6. Sviatoha V, Tani E, Kleina R, Sperga M, Skoog L. Immunohistochemical analysis of the S100A1, S100B, CD44 and Bcl-2 antigens and the rate of cell proliferation assessed by Ki-67 antibody in benign and malignant melanocytic tumours. *Melanoma Res*. 2010 Apr;20(2):118-25.
7. Cossu-Rocca P, Contini M, Brunelli M, Festa A, Pili F, Gobbo S, Eccher A, Mura A, Massarelli G, Martignoni G. S-100A1 is a reliable marker in distinguishing nephrogenic adenoma from prostatic adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2009 Jul;33(7):1031-6.