

Anticorpo Uroplakin 3 Monoclonal anti-humano - (Clone BC17)

Mouse anti-human Uroplakin 3 Monoclonal Antibody (Clone BC17)

Código	EP-12-53163	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	BC17
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG
• Imunógeno	:	-
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Secção de tecido da bexiga normal e/ou carcinoma urotelial.
• Marcação	:	Membrana Citoplasmática e Citoplasma.

Aplicações conhecidas

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

Especificações:

As uroplakin (Ups) compreendem um grupo de 4 proteínas transmembrana (UPs Ia, Ib, II e III), que são um produto da diferenciação específica de células uroteliais. Este anticorpo detecta a uroplakin III, uma glicoproteína de 47 kDa de massa molecular que faz parte da membrana unitária assimétrica que constitui as placas na superfície apical das células uroteliais superficiais, também conhecidas como células guarda-chuva.

Em células não neoplásicas, a Uroplakin III é detectada exclusivamente no urotélio normal da bexiga urinária, ureter e pelve renal. O anticorpo mancha a superfície luminal da membrana plasmática das "células guarda-chuva" uroteliais. Ele também mancha ligeiramente o citoplasma de algumas dessas células e algumas células uroteliais mais profundas e isoladas. Os ninhos de von Brunn também mostram coloração luminal. O restante dos tecidos normais é negativo para Uroplakin III.

Nas células neoplásicas, a uroplakin III é detectada em 60% dos carcinomas uroteliais primários e em 53% das suas metástases (sensibilidade 57%). Tumores de Brenner do ovário também mostram imunorreatividade para uroplakin III, o resto de neoplasias não-uroteliais são negativos (especificidade de 100%). Marcadores como uroplakin III, p63, trombosmodulina e GATA3 são expressos em uma alta porcentagem de carcinomas uroteliais e geralmente são negativos para carcinomas de células renais. Portanto, eles são úteis para estabelecer o diagnóstico diferencial em casos de carcinomas uroteliais de alto grau que afetam o rim.

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. 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 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 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. Wu XR, Lin JH, Walz T, Häner M, Yu J, Aebi U, Sun TT. Mammalian uroplakins: a group of highly conserved urothelial differentiation-related membrane proteins. *J Biol Chem*; 269: 13716-13724. 1994.
2. Moll R, Wu XR, Lin JH, Sun TT. Uroplakins, specific membrane proteins of urothelial umbrella cells, as histological markers of metastatic transitional carcinomas. *Am J Pathol*; 147: 1383-1397. 1995.
3. Kaufmann O, Volmerig J, Dietel, M. Uroplakin III Is a Highly Specific and Moderately Sensitive Immunohistochemical Marker for Primary and Metastatic Urothelial Carcinomas. *Am J Clin Pathol*; 113(5): 683-687. 2000.
4. Truong LD, Shen SS. Immunohistochemical diagnosis of renal neoplasms. *Arch Pathol Lab Med*; 135(1): 92-109. 2011.
5. Shen SS, Truong LD, Scarpelli M, Lopez-Beltran A. Role of immunohistochemistry in diagnosing renal neoplasms: when is it really useful? *Arch Pathol Lab Med*; 136(4): 410-417. 2012.

