

VIP - Anti-humano Monoclonal Anticorpo (Clone H-6)

Mouse Anti- human VIP Monoclonal Antibody (Clone H-6)

Código	EP-12-53213	1ml
• Diluição recomendada	:	1:40
• Validade e lote do produto	:	ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	H-6
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG2b
• Imunógeno	:	Anticorpo contra aminoácidos 1-95 de peptídeo intestinal vasoactivo VIP de humanorigina.
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Cólon
• 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 glucagon é um hormônio pancreático que funciona como um antagonista da insulina, estimulando a conversão de glicogênio em glicose e aumentando os níveis de açúcar no sangue. O péptido 1 semelhante ao glucagon (GLP-1), o péptido 2 semelhante a glucagon (GLP-2), VIP (péptido intestinal vasoactivo) e PACAP (polipéptido ativador da adenilato-ciclase pituitária) são membros da família de hormônios glucagon. O GLP-1 funciona como um transmissor no sistema nervoso central, inibindo o comportamento de alimentação e bebida, enquanto o GLP-2 é um estimulador do crescimento epitelial intestinal. VIP provoca vasodilatação, resultando na redução da pressão arterial. PACAP é abundante no hipotálamo e foi mostrado para aumentar a síntese de vários hormônios, incluindo o hormônio do crescimento.

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 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. Masker, K., et al. 2007. Transcriptional profile of Rous sarcoma virus transformed chicken embryo fibroblasts reveals new signaling targets of viral-Src. *Virology* 364: 10-20.
2. Li, J.P., et al. 2014. Neurochemical phenotype and function of endomorphin 2-immunopositive neurons in the myenteric plexus of the rat colon. *Front. Neuroanat.* 8: 149.
3. Hinata, N. and Murakami, G. 2014. The urethral rhabdosphincter, levator ani muscle, and perineal membrane: a review. *Biomed. Res. Int.* 2014: 906921.
4. Sohn, W., et al. 2014. Mast cell number, substance P and vasoactive intestinal peptide in irritable bowel syndrome with diarrhea. *Scand. J. Gastroenterol.* 49: 43-51.
5. Jang, H.S., et al. 2015. Composite nerve fibers in the hypogastric and pelvic splanchnic nerves: an immunohistochemical study using elderly cadavers. *Anat. Cell Biol.* 48: 114-123.
6. Li, J.P., et al. 2015. Neurochemical features of endomorphin-2-containing neurons in the submucosal plexus of the rat colon. *World J. Gastroenterol.* 21: 9936-9944.
7. Coyle, D., et al. 2016. Altered neurotransmitter expression profile in the ganglionic bowel in Hirschsprung's disease. *J. Pediatr. Surg.* 51: 762-769.