

PIT-1/POU1F1 – Anticorpo monoclonal de coelho (Clone EPR23555-203)

Rabbit Anti-PIT-1/POU1F1 Recombinant Antibody (Clone EPR23555-203)

Código EP-12-53323 **1ml** **1:20** **Concentrado**

- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : EPR23555-203
- Isotipo Ig : IgG de coelho
- Imunógeno : proteína recombinante correspondente a PIT-1/POU1F1 humano
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : adenoma pituitário ou pituitária normal
- 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 molécula PIT-1 (fator de transcrição específico da pituitária, também conhecido como POU1F1 ou GHF-1) pertence, juntamente a OCT1 e Unc-06, ao grupo POU de fatores de transcrição envolvidos no desenvolvimento. A molécula PIT-1 é codificada por um gene localizado na região cromossômica 3p11.2.

O PIT-1 está envolvido na diferenciação e desenvolvimento de células pituitárias anteriores, células que secretam as hormonas com atividade lactotrófica, somatotrófica e tirotrófica (subunidade beta). Está também envolvido na ativação dos genes controladores de hormonas de crescimento e de prolactina. As mutações heterogêneas (homo e heterozigotas) no PIT-1 levam a uma deficiência pituitária combinada do tipo 1, que se caracteriza clinicamente por um crescimento irreversível e retardamento mental e combina com níveis plasmáticos deficientes de hormona de crescimento e prolactina ou TSH. Em contraste, os níveis de ACTH, LH ou FSH mantêm-se dentro dos limites normais nesta doença. Foi também descrita a existência de uma deficiência pituitária combinada adquirida, na qual os pacientes não têm mutações no gene PIT-1, mas têm baixos níveis plasmáticos de TSH e T4 livre, juntamente a níveis indetectáveis de hormônio de crescimento e prolactina. Nestes casos, a doença está relacionada com a presença de autoanticorpos ao PIT-1, microsomas, tiroglobulina, peroxidase da tiroide, GAD e células parietais do estômago.

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. Herr W, Sturm RA, Clerc RG, Corcoran LM, Baltimore D, Sharp PA, Ingraham HA, Rosenfeld MG, Finney M, Ruvkun G, et al. The POU domain: a large conserved region in the mammalian pit-1, oct-1, oct-2, and Caenorhabditis elegans unc-86 gene products. *Genes Dev.* 1988 Dec;2(12A):1513-6.
2. Ohta K, Nobukuni Y, Mitsubuchi H, Ohta T, Tohma T, Jinno Y, Endo F, Matsuda I. Characterization of the gene encoding human pituitary-specific transcription factor, Pit-1. *Gene.* 1992 Dec 15;122(2):387-8.
3. Tatsumi K, Miyai K, Notomi T, Kaibe K, Amino N, Mizuno Y, Kohno H. Cretinism with combined hormone deficiency caused by a mutation in the PIT1 gene. *Nat Genet.* 1992 Apr;1(1):56-8.
4. Lopes MBS. The 2017 World Health Organization classification of tumors of the pituitary gland: a summary. *Acta Neuropathol.* 2017 Oct;134(4):521-535.
5. Nishioka H, Inoshita N. New WHO classification of pituitary adenomas (4th edition): assessment of pituitary transcription factors and the prognostic histological factors. *Brain Tumor Pathol.* 2018 Apr;35(2):57-61.
6. Manojlovic-Gacic E, Engström BE, Casar-Borota O. Histopathological classification of non-functioning pituitary neuroendocrine tumors. *Pituitary.* 2018 Apr;21(2):119-129