



VITRO S.A Calle Luís Fuentes Bejarano 60 Edificio Nudo Norte Local 3 41020 Sevilla (España) F: +34 954 922 892

T: +34 954 933 200 www.vitro.bio

Cathepsin K (3F9)

ANTICORPO MONOCLONAL ANTI-CATEPSINA K (Clone 3F9)

DESCRIÇÃO DO REAGENTE

Composição: Anticorpo monoclonal de rato anti-catepsina K, purificado por cromatografia de afinidade em proteína G e prediluido em tampão Tris, pH 7.6 com 1% BSA (ANTICORPO "PRONTO A USAR"). A solução contém 0.375mM de Azida de Sódio como agente bacteriostático e bactericida. A quantidade de anticorpo ativo na amostra é desconhecida.

Clone: 3F9

Imunogénio: Proteina recombinante de catepsina K Humana

Fonte e isótopo da imunoglobulina: IgG2b de rato Uso Previsto Para uso exclusivo em investigação

Aplicação: Determinação imunohistoquímica sobre tecido incluído em parafina.

Apresentação ∜:

Referências/apresentações gerais para este anticorpo em formato pronto para utilização em instrumentos LabVision Autostainer1:

> MAD-000440QD-3-> Volume = 3 mL MAD-000440QD-7 -> Volume = 7 mL MAD-000440QD-12-> Volume = 12 mL

Referências/apresentações gerais para este anticorpo em formato pronto para utilização no equipamento MD-Stainer:

> MAD-0004400D-3/V MAD-000440QD/V

Referência / apresentação para este anticorpo em formato concentrado:

MAD-000440Q -> Volume = 1 mL

Condições de armazenamento 4: Frio entre 2 e 8ºC.

Data de validade : O reagente uma vez aberto pode ser conservado até à data de validade assinalada na etiqueta. Se o reagente for armazenado em condições diferentes das assinaladas na etiqueta o, o utilizador deverá verificar previamente o seu correto funcionamento tendo em conta que a garantia do produto já não é valida.

Instruções especiais de manipulação: Este reagente está especialmente desenhado para manipulação nos equipamentos LabVision Autostainer e MD-Stainer.

Para o formato concentrado a diluição recomendada é 1:50 (validade por um sistema de imunodeteção Master Polymer Plus Detection System.Peroxidase (MAD-000237QK)

1 Estas referências são para a apresentação em frascos de Polietileno de Baixa Densidade (LDPE) com conta gotas. Para o caso de que os produtos sejam utilizados em equipamentos automáticos LabVision Autostainer, existe uma apresentação especial cujas referências e volumes são as mesmas seguidos de /N: para frascos poligonais com tampa de rosca (QD-3/N, QD-7/N, QD-12/N). No caso de o utilizador desejar outra referência/volumes diferente deverá contactar o fornecedor.

Rev.: 2017-11-30





Advertências e precauções:

- 1) O reagente só deve ser manipulado por utilizadores experientes em laboratórios autorizados. Para o seu manuseamento em investigação existem outras apresentações.
- 2) Deve-se ter em conta que a responsabilidade final na otimização e interpretação dos resultados é dos técnicos que os utilizam, pelo que este reagente não é mais que uma ferramenta para a interpretação das descobertas morfológicas de cada caso, em conjunto com outros testes de diagnóstico e outros dados clínicos do paciente.
- 3) O reagente contém azida de sódio (NaN3) como conservante. Embora este produto seja altamente tóxico (e quando se mistura com água principalmente na presença de metais, existe perigo de explosão), estes riscos estão minimizados ao máximo quando se utiliza em concentrações inferiores al 0,05% como é o caso.

No entanto, devem tomar-se as seguintes precauções para a utilização deste reagente: a) Uso de Luvas e de equipamento de proteção para as técnicas imunohistoquímicas estabelecidas assim como respeito estrito das práticas gerais de segurança existentes no laboratório; b) Não armazenar os reagentes em frascos metálicos nem utilizar materiais desta natureza para o seu manuseamento; c) Armazenar os resíduos para eliminação utilizando contentores apropriados pela norma vigente em cada laboratório. Nunca despejar pelo ralo.

ESPECIFICIDADE

Este anticorpo reconhece a catepsina K humana de 224 aminoácidos e forma parte da Procatepsina.

SENSIBILIDADE E EXPRESSÃO EM TECIDOS NORMAIS

A catepsina K é uma protease de cisteína semelhante à papaína, que é seletivamente expressa nos osteoclastos e responsável pela reabsorção e remodelação óssea. A expressão nos osteoclastos é controlada pelo fator de Transcrição de microftalmia (MITF).

A catepsina K é essencial para a reabsorção óssea normal. Pacientes sem catepsina K sofrem de picnodisostose, caracterizada por estatura reduzida e osteoesclerose.

A reabsorção óssea depende da síntese da catepsina K pelos osteoclastos e da sua secreção extracelular na junção entre o osteoclasto e a superfície óssea. A matiz orgânica é degradada pela catepsina K e é modulada por citocinas (RANKL, fator de necrose tumoral alfa e interferon gama), hormonas (ácido retinóico e estrogênio) e fatores de transcrição nuclear (c-jun e Mitf).

APLICAÇÕES DIAGNÓSTICAS

Este anticorpo é útil para o estudo do metabolismo ósseo (osteoporose, osteopetrose) e cartilaginoso, para identificação de osteoclastos normais e neoplasias deles derivados (osteoclastomas), tumor de células gigantes ósseos. Os sarcomas alveolares de tecidos moles expressam catepsina K intensamente em 100% dos os casos (18/18) em aproximadamente 75% das células neoplásicas. Pelo contrário, carcinomas renais ASPSCR1-TFE3 (7/7) são negativos para a catepsina K. No entanto, 12 de 14 carcinomas renais PRCC-TFE3 expressam a catepsina K em 60% das células neoplásicas. Como tal, a expressão da catepsina K é de utilidade para distinguir carcinomas renais com translocação de MITF / TEF dos restantes carcinomas renais e para o diagnóstico diferencial entre sarcoma alveolar e carcinoma renal metastático ASPSCR1-TFE3, quando o primeiro afeta locais incomuns, como ossos, ou apresenta um padrão morfológico com células claras.

CALIBRADORES E CONTROLES

Padrão de Imunocoloração: Citoplasmático

Controle Positivo: Secção tecidular óssea com osteoclastos.

Controle Negativo: Preparação homóloga à amostra teste incubada com um anticorpo isotipo IgG2b não específico para catepsina K.

LIMITAÇÕES DO REAGENTE

Não é apto para Western-blotting. O uso sobre tecido congelado não foi validado.

TIPOS DE AMUESTRAS

Cortes de 4 microns de espessura montadas sobre lâminas especiais para imunohistoquímica obtidas de tecidos incluídos em parafina, preferivelmente fixados em formol tamponado, embora também sejam adequados as tratadas com soluções que contém Cloreto de mercúrico (B5).

Rev.: 2017-11-30





RECUPERAÇÃO ANTIGÉNICA

Os cortes de parafina devem ser submetidos à recuperação antigénica por calor seguindo o procedimento standard de cada laboratório, embora os melhores resultados sejam obtidos utilizando soluções tampão citrato pH 6.0 no módulo PT de recuperação a 95°C durante 20 minutos.

Em resumo o processo inclui a desparafinação dos cortes, recuperação por calor e sucessivas lavagens em tampão. Para um maior detalhe devem consultar as instruções de uso do módulo PT.

Para conhecer as condições técnicas deste anticorpo no instrumento MD-Stainer, contacte o distribuidor.

EQUIPAMENTOS E PRODUTOS NECESSÁRIOS NÃO FORNECIDOS COM O REAGENTE

É possível realizar manualmente a Imunocoloração porque o reagente está validado e otimizado para utilização nos equipamentos LabVision Autostainer e MD-Stainer. Para utilização noutros equipamentos automatizados de IHQ distribuídos pelo grupo Vitro S.A existem outras apresentações do reagente.

Todo o processo de imunocoloração dos cortes e os códigos de sistema que permitem o reconhecimento online do reagente e das lâminas submetidas a estudo encontra-se programado no software. Desta forma, quando este procedimento de análise é implementado num laboratório pela primeira vez, será essencial garantir que as informações no instrumento estão corretamente programadas. Em caso de necessidade, entrar em contacto com o distribuidor autorizado.

Deverá ter sempre em conta que as condições ótimas de trabalho podem variar dependendo do tipo de tecido e que, em gualquer caso, devem ser estabelecidas individualmente para cada laboratório

De uma forma geral, e para otimizar o processo, recomenda-se o emprego de diferentes produtos de amplificação, revelação e coloração de contraste em kits produzidos por Vitro S.A e tampões e consumíveis específicos para estes instrumentos. Para mais detalhes, consulte o manual de instruções do equipamento e catálogo da empresa VITRO S.A.

PRINCIPIO DO METODO ANALITICO

Deteção antigénica sobre tecidos e células utilizando um procedimento imunohistoquímico de várias etapas que incluem a incubação do anticorpo primário, a incubação com um reagente imuno de ponte (idealmente de Multiespécie) marcado enzimaticamente, a revelação da atividade por uma reação colorimétrica, a coloração de contraste com Hematoxilina e os correspondentes lavados entre passos,

Para mais detalhes, seguir os procedimentos standard de cada laboratório, consultar as instruções recomendadas do fabricante de cada produto e seguir os procedimentos programados no equipamento.

INCIDENTES E RECLAMAÇÕES

Recomenda-se seguir exaustivamente todas as indicações fornecidas na ficha técnica. No caso de resultados atípicos ou não são esperados, pede-se o favor que contacte com o seu fornecedor / distribuidor autorizado, ou em caso de necessidade, diretamente com Vitro S.A.

RECOMENDAÇÕES DE SEGURANÇA

O produto está destinado unicamente para o uso profissional em laboratório e não como fármaco, para uso doméstico ou outros fins.

A versão atual da ficha técnica dos dados de segurança deste produto pode-se realizar o download através da procura da sua referencia em www.vitro.bio ou pode ser solicitada a regulatory@vitro.bio .

LIMITAÇÕES E GARANTIA

Se todas as condições de armazenamento e funcionamento no laboratório forem cumpridas, este reagente cumpre todas as garantias durante o seu prazo de validade.

Vitro S.A não é responsável dos danos, lesões pessoais ou percas económicas em que este reagente possa estar implicado.

BIBLIOGRAFÍA

- 1. Troen BR. The role of cathepsin K in normal bone resorption. Drug News Perspect; 17(1):19-28. 2004.
- 2. Lindeman JH, Hanemaaijer R, Mulder A, Dijkstra PD, Szuhai K, Bromme D, Verheijen JH, Hogendoorn PC. Cathepsin K is the principal protease in giant cell tumor of bone. Am J Pathol;165(2):593-600. 2004.
- 3. Martignoni G, Pea M, Gobbo S, Brunelli M, Bonetti F, Segala D, Pan CC, Netto G, Doglioni C, Hes O, Argani P, Chilosi M. Cathepsin-K immunoreactivity distinguishes MiTF/TFE family renal translocation carcinomas from other

Rev · 2017-11-30





renal carcinomas. Mod Pathol; 22(8):1016-22. 2009.

4. Morko J, Kiviranta R, Mulari MT, Ivaska KK, Väänänen HK, Vuorio E, Laitala-Leinonen T. Overexpression of cathepsin K accelerates the resorption cycle and osteoblast differentiation in vitro. Bone; 44(4): 717-728. 2009. 5. Martignoni G, Gobbo S, Camparo P, Brunelli M, Munari E, Segala D, Pea M, Bonetti F, Illei PB, Netto GJ, Ladanyi M, Chilosi M, Argani P. Differential expression of cathepsin K in neoplasms harboring TFE3 gene fusions. Mod

Pathol; 24(10): 1313-1319. 2011.