

## Clusterin – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP181)

Rabbit anti-human Clusterin Monoclonal Antibody (Clone EP181)

Código	EP-12-50983	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP181 <sup>3</sup>
• Isotipo Ig	:	IgG
• Imunógeno	:	Peptídeo sintético correspondente a resíduos da clusterina humana.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção de tecidos da amígdala
• Marcação	:	Citoplasma. Membrana ou coloração extracelular também pode ser detectada.

### Aplicações conhecidas

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

### Especificações:

Este anticorpo monoclonal reconhece a clusterina, uma glicoproteína heterodimérica de 70-80 kDa. A clusterina é altamente expressa em vários tecidos, incluindo pâncreas, amígdala, nasofaringe, colo uterino e epidídimo; também é secretado em diferentes fluidos. A clusterina humana é codificada por um gene de cópia única localizado no cromossomo 8p12 e 8p21 com nove exons e oito introns, medindo aproximadamente 17 kb. A clusterina tem duas isoformas: uma é secretada diretamente em diferentes fluidos e a outra é expressa no citoplasma e no núcleo da célula. A clusterina está envolvida em numerosos processos biológicos, incluindo transporte lipídico, diferenciação epitelial, interação célula-matriz, agregação celular e regulação da apoptose em epitélios dependentes de hormônios. A clusterina foi recentemente proposta como um marcador imunohistoquímico específico para tumores de células dendríticas foliculares, uma vez que não é expresso no restante das neoplasias de células dendríticas (histiocitose de células de Langerhans e tumores de células dendríticas interdigitantes) e é muito útil quando incluído no painel que compreende CD21, CD35, proteína S-100, CD1a, CD68, actina, desmina e citoqueratina para o diagnóstico diferencial de tumores de células dendríticas. A expressão gênica de Clusterin foi demonstrada por análise de microarranjo em linfomas anaplásicos sistêmicos (80-100% dos casos) e cutâneos (40-60%), em alguns linfomas grandes de células B (10%) e muito esporadicamente em linfomas T periféricos e esclerose nodular Linfomas de Hodgkin. Entre as neoplasias não hematopoiéticas, a superexpressão da clusterina foi detectada nos carcinomas de mama, cólon, pâncreas e próstata. A superexpressão em carcinomas da próstata inibe a morte apoptótica das células neoplásicas; portanto, um efeito protetor contra a morte celular por apoptose está associado a essa proteína.

### 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 seção 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 horizontal, 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](http://www.grupoerviegas.com.br).

#### Referências Bibliográficas

1. Wellman A, Thieblemont C, Pittaluga S, et al. Detection of differentially expressed genes in lymphomas using cDNA arrays: identification of clusterin as a new diagnostic marker for anaplastic large cell lymphomas. *Blood*; 96: 398-404. 2000.
2. Xie M, Motoo Y, Su S, et al. Expression of clusterin in human pancreatic cancer. *Pancreas*. 25: 234-238. 2002.
3. Saffer H, Wahed A, Rassidakis GZ, Medeiros LJ. Clusterin expression in malignant lymphomas: a survey of 266 cases. *Mod Pathol*; 15: 1221-1226. 2002.
4. Karen L. Grogg, MD, Marick E. Lae, MD, Paul J. Kurtin, MD, and William R. Macon, VITRO S.A. Clusterin Expression Distinguishes Follicular Dendritic Cell Tumors From Other Dendritic Cell Neoplasms Report of a Novel Follicular Dendritic Cell Marker and Clinicopathologic Data on 12 Additional Follicular Dendritic Cell Tumors and 6 Additional Interdigitating Dendritic Cell Tumors. *Am J Surg Pathol*; 28: 988-998. 2004.
5. Hong-Zhi H, Zhen-Mei S, Kun W, Liang-Hong T, Fang L, You-Sheng M, Ning L, Shang-Zhong Z, Min W, Xiao-Hang Z). Alterations in expression, proteolysis and intracellular localizations of clusterin in esophageal squamous cell carcinoma *World J Gastroenterol*; 10: 1387-1391. 2004.

