

ER – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Receptor de Estrogênio

Rabbit anti-human Estrogen Receptor (ER) Monoclonal Antibody (Clone SP1)

Código	EP-12-51383	1ml	Concentrado
	EP-12-51381	0,1ml	Concentrado
	EP-12-51384	1ml	Pronto para uso
	EP-12-51386	6ml	Pronto para uso

- Diluição recomendada : 1:50
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : SP1
- Isotipo Ig : Coelho IgG
- Imunógeno : Peptídeo sintético derivado do terminal C do receptor alfa de estrogênio humano.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Mama, endométrio.
- 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:

Este anticorpo monoclonal de coelho (clone SP1) reage especificamente com a isoforma alfa humana dos receptores de estrogênio que não foram testados noutras espécies como ratinho, rato e hamsters, na medida em que mostra reactividade. Este anticorpo é útil para a identificação imuno-histoquímica do receptor de estrogênio em células normais e neoplásicas dependentes de estrogênio. A descrição de vários tipos de neoplasmas benignos e malignos positivos para receptores de estrogênio, como meningiomas, adenocarcinoma de pulmão e estômago e, acima de tudo, no câncer de mama, juntamente com o uso de terapias hormonais para o seu tratamento, tornaram sua expressão um parâmetro importante na predição do prognóstico da doença e sua resposta à terapia hormonal.

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 - 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 Muscae Plus (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 desparafinação 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. Mason BH, Holdaway IM, Mullins PR, Yee LH, Kay RG: Progesterone and estrogen receptors as prognostic variables in breast cancer. *Cancer Res.* 43:2985-90 (1983).
2. Shintaku P and Said J W. Detection of estrogen receptors with monoclonal antibodies in routinely processed formalin-fixed paraffin sections of breast carcinoma. *Am J Clin Pathol.* 87: 161-167 (1987).
3. Hurlimann J, Gebhard S, Gomez F: Oestrogen receptor, progesterone receptor, pS2, ERD5, HSP27 and Cathepsin D in invasive ductal breast carcinomas. *Histopathology.* 23: 239-248 (1993).
4. Snead DR, Bell JA, Dixon AR, Nicholson RI, Elston CW, Blamey RW, Ellis IO: Methodology of immunohistological detection of oestrogen receptor in human breast carcinoma in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue: a comparison with frozen section methodology. *Histopathology.* 23:233-8 (1993).
5. Bevit DJ, Milton ID, Piggot N, Henry L, Carter MJ, Toms GL, Lennard TW, Westley B, Angus B, Horne CH: New monoclonal antibodies to oestrogen and progesterone receptors effective for paraffin section immunohistochemistry. *J Pathol.* 183:228-32 (1997).
6. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC: Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol.* 17:1474-81 (1999).
7. Zafrani B, Aubriot MH, Mouret E, De Cremoux P, De Rycke Y, Nicolas A, Boudou E, Vincent-Salomon A, Magdelenat H, Sastre-Garau X: High sensitivity and specificity of immunohistochemistry for the detection of hormone receptors in breast carcinoma: comparison with biochemical determination in a prospective study of 793 cases. *Histopathology.* 37:536-45 (2000).
8. Leake R, Barnes D, Pinder S, Ellis I, Anderson L, Anderson T, Adamson R, Rhodes T, Miller K, Walker R: Immunohistochemical detection of steroid receptors in breast cancer: a working protocol. *UK Receptor Group, UK Rev.:* 2018-04-12 Pág. 5 de 5 Este documento é uma tradução da sua versão original em espanhol e inglês. Se tiver alguma dúvida que possa surgir na sua interpretação, por favor consulte o documento original em www.vitro.bio ou solicite uma cópia em regulatory@vitro.bio NEQAS, The Scottish Breast Cancer Pathology Group, and The Receptor and Biomarker Study Group of the EORTC. *J Clin Pathol.* 53:634-5 (2000).
9. Pavao M, Traish AM: Estrogen receptor antibodies: specificity and utility in detection, localization and analyses of estrogen receptor alpha and beta. *Steroids.* 66:1-16 (2001).
10. Taddei GL, Caldarella A, Raspollini MR, Taddei A, Buccoliero AM: Estrogen and progesterone receptors in meningiomas: immunohistochemical (Mib-1, p53) and clinico-morphological correlations. *Pathologica.* 94(1):10-5 (2002).
11. Dabbs DJ, Landreneau RJ, Liu Y, RaabSS, Maley RH, Tung MY, Silverman JF: Detection of estrogen receptor by immunohistochemistry in pulmonary adenocarcinoma. *Ann Thorac Surg.* 73:403-5 (2002).
12. Nash JW, Morrison C, Frankel WL: The utility of estrogen receptor and progesterone receptor immunohistochemistry in the distinction of metastatic breast carcinoma from other tumors in the liver. *Arch Pathol Lab Med.* 127:1591-5 (2003).
13. Cocquyt VF, Schelfhout VR, Blondeel PN, Depypere HT, Daems KK, Serreyn RF, Praet MM, Van Belle SJ: The role of biological markers as predictors of response to preoperative chemotherapy in large primary breast cancer. *Med Oncol.* 20:221-31 (2003).
14. Uchikawa J, Shiozawa T, Shih HC, Miyamoto T, Feng YZ, Kashima H, Oka K, Konishi I: Expression of steroid receptor co activators and corepressors in human endometrial hyperplasia and carcinoma with relevance to steroid receptors and Ki-67 expression. *Cancer.* 98:2207-13 (2003).
15. Zhao XH, Gu SZ, Liu SX, Pan BR: Expression of estrogen receptor and estrogen receptor messenger RNA in gastric carcinoma tissues. *World J Gastroenterol.* 9(4):665-9 (2003).
16. Cano G, Milanezi F, Leita D, Ricardo S, Brito MJ, Schmitt FC: Estimation of hormone receptor status in fine-needle aspirates and paraffin-embedded sections from breast cancer using the novel rabbit monoclonal antibodies SP1 and SP2. *Diagn Cytopathol.* 29:207-11 (2003).