

FLI-1 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (G146-222)

Mouse Anti-Human Fli-1 Monoclonal Antibody (Clone G146-222)

Código	EP-12-51443	1ml
• Diluição recomendada	:	1:100
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	G146-222
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG 2b
• Imunógeno	:	Proteína de fusão de domínio Fli-1 ets
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Amígdalas (células endoteliais) ou PNET
• 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:

O gene FLI-1 codifica o fator de transcrição de mesmo nome (FLI-1) que tem um papel fundamental no desenvolvimento embrionário dos vasos sanguíneos. A expressão de Fli-1 aparece como o primeiro marcador confiável de diferenciação endotelial. Em tumores como o sarcoma de Ewing / tumor neuroectodérmico primitivo (ES / PNET), o FLI-1 desempenha um papel patogênico e mais de 90% do ES / PNET tem a translocação t (11; 22) (q24, q12) produzindo a fusão do EWS gene localizado no cromossomo 22 com o gene Fli-1 localizado no cromossomo 11. Em outros tumores, a positividade nuclear para FLI-1 foi detectada em 95% dos tumores vasculares benignos (hemangiomas) e malignos (hemangioendotelioma, angiossarcoma, sarcomas de Kaposi). em diferentes linfomas, incluindo linfomas de células precursoras (leucemia linfoblástica / linfoma linfoblástico), linfoma de células T, de linfomas anaplásicos de grandes células, angioimunoblástico linfoma T, linfoma de células T associado à enteropatia, todos os estágios de micose fungóide com intensidade variável e em 50% do linfoma periférico. Foi relatado recentemente em melanomas.

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. Lucas DR, Bentley G, Dan ME, et al. Ewing sarcoma vs lymphoblastic lymphoma. A comparative immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol*; 115: 11-17. 2001.
2. Llombart-Bosch A, Navarro S. Immunohistochemical detection of EWS and FLI-1 proteins in Ewing sarcoma and primitive neuroectodermal tumors: comparative analysis with CD99 (MIC-2) expression. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*; 9: 255-260. 2001.
3. Folpe AL, Chand EM, Goldblum JR, Weiss SW. Expression of Fli-1, a nuclear transcription factor, distinguishes vascular neoplasms from potential mimics. *Am J Surg Pathol* 25: 1061-1066. 2001.
4. Hewett PW, Nishi K, Daft EL, Clifford Murray J. Selective expression of erg isoforms in human endothelial cells. *Int J Biochem Cell Biol* 33: 347-355. 2001.
5. Pusztaszeri MP, Seelentag W, Bosman FT. Immunohistochemical expression of endothelial markers CD31, CD34, von Willebrand factor, and Fli-1 in normal human tissues. *J Histochem Cytochem*; 54(4): 385-95. 2005.
6. Quick CM, Smoller BR, Hiatt KM. Fli-1 expression in mycosis fungoides. *J Cutan Pathol*; 33(9): 642-5. 2006.
7. Torlakovic EE, Slipicevic A, Flørenes VA, Chibbar R, DeCoteau JF, Bilalovic N. Fli-1 expression in malignant melanoma. *Histo I Histopathol*; 23(11): 1309-14. 2008.
8. Lin O, Filippa DA, Teruya-Feldstein J. Immunohistochemical evaluation of FLI-1 in acute lymphoblastic lymphoma (ALL): a potential diagnostic pitfall. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*; 17(5): 409-12. 2009.