

## HSP70 – Anticorpo Policlonal anti-humano – Proteína de Choque Térmico 70

Mouse anti-human Heat Shock Protein 70 (HSP70) Monoclonal Antibody - (Clone W27)

<b>Código</b>	<b>EP-12-51613</b>	<b>1ml</b>	<b>Concentrado</b>
	<b>EP-12-51616</b>	<b>6 ml</b>	<b>Pronto para uso</b>

- Diluição recomendada : 1:50
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : W27
- Isotipo Ig : Camundongo IgG2a
- Imunógeno : Proteína HSP70 de células HeLa.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Células BT474 ou HeLa. Carcinoma de mama.
- Marcação : Citoplasma e Núcleo celular

### Aplicações conhecidas

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

### Especificações:

Proteínas de choque térmico (HSPs) ou proteínas de resposta ao estresse (SRPs) são sintetizadas em uma variedade de condições estressantes ambientais e fisiopatológicas. Muitos STEPs estão envolvidos em processos como renaturação da desnaturação da proteína, desdobramento-dobramento, translocação do transporte, inativação da ativação e secreção. HSP70 é encontrado para ser associado com receptores de esteróides, actina, p53, antígeno de polioma T, nucleotídeos e outras proteínas desconhecidas. Além disso, a HSP70 demonstrou estar envolvida em papéis protetores contra estresse térmico, drogas citotóxicas e outras condições danosas. Este anticorpo reconhece as formas constitutiva (HSP73) e indutível (HSP72) da HSP70. A maioria das células normais apresenta imunocoloração citoplasmática e nuclear moderada. Ilhotas pancreáticas, células do músculo cardíaco e a maioria das células do SNC são pouco coradas ou negativas. A HSP70 nos tumores está significativamente aumentada em pacientes com colangiocarcinoma. A HSP70 é positiva na maioria do carcinoma hepatocelular. Nos carcinomas espinocelulares de boca, a expressão da HSP70 tem sido associada ao aumento da sobrevivência em comparação com os tumores HSP70 negativos, sugerindo que a baixa expressão da HSP70 nos carcinomas epidermóides requer tratamento mais agressivo.

### 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 (MuscaePlus/ EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão Citrato pH6 (Recomendado EP-12-20557/8 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 MuscaePlus (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](http://www.grupoerviegas.com.br).

#### **Referências Bibliográficas**

1. Tavassol F, Starke OF, Kokemüller H, Wegener G, Müller-Tavassol CC, Gellrich NC, Eckardt A. Prognostic significance of heat shock protein 70 (HSP70) in patients with oral cancer. *Head Neck Oncol*; 3: 1-10. 2011.
2. Meng L, Hunt C, Yaglom JA, Gabai VL, Sherman MY. Heat shock protein Hsp72 plays an essential role in Her2-induced mammary tumorigenesis. *Oncogene*; 30(25): 2836-2845. 2011.
3. Shin E, Ryu HS, Kim SH, Jung H, Jang JJ, Lee K. The clinicopathological significance of heat shock protein 70 and glutamine synthetase expression in hepatocellular carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*; 18(4): 544-550. 2011.
4. Tutar Y. Hsp70 in oncology. *Recent Pat DNA Gene Seq*; 5(3): 214-218. 2011.
5. Sato Y, Harada K, Sasaki M, Yasaka T, Nakanuma Y. Heat shock proteins 27 and 70 are potential biliary markers for the detection of cholangiocarcinoma. *Am J Pathol*; 180(1): 123-130. 2012.

