

NKX3.1 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP356)

Rabbit Anti-Human NKX3.1 Monoclonal Antibody (EP356)

Código	EP-12-52243	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP356 ³
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Peptídeo sintético correspondente a resíduos na proteína humana do NKX3.1
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Próstata normal
• Marcação	:	Núcleo

Aplicações conhecidas

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

Especificações:

NKX3.1 é uma proteína supressora de tumor específica da próstata que é codificada pelo gene homeobox NKX3.1 localizado na região cromossômica 8p21 e cuja expressão é regulada por andrógenos. A proteína atua como um importante fator de transcrição no desenvolvimento normal da próstata, uma vez que regula a proliferação do epitélio glandular e a formação de ductos excretórios. Por essa razão, a proteína, localizada nas células luminais (considerada o caule do epitélio da próstata), intervém na regeneração da próstata e é suscetível à transformação oncogênica. Devido ao seu caráter haploinsuficiente, a proteína NKX3.1 é frequentemente regulada negativamente durante os estágios iniciais da carcinogênese em lesões pré-malignas e neoplasia intraepitelial prostática e, por essa razão, a perda de heterozigotidade está presente em 60-80% dos tumores de próstata. De fato, a perda de atividade do gene NKX3.1 em modelos murinos causa o aparecimento de neoplasia prostática intraepitelial semelhante a lesões humanas. O fator de transcrição NKX3.1 é expresso no epitélio normal da próstata, predominantemente localizado no núcleo da célula. Independentemente do epitélio da próstata, coloração positiva também foi observada no epitélio seminal testicular (espermatozônias), ureto e glândulas mucosas secretoras do epitélio brônquico pulmonar. Embora no adenocarcinoma da próstata primário e metastático o anticorpo tenha uma menor intensidade de coloração em comparação com a próstata normal, quando a coloração está presente, o anticorpo NKX3.1 possui um marcador tecidual altamente sensível específico para o adenocarcinoma da próstata. Embora no adenocarcinoma da próstata primário e metastático o anticorpo tenha uma menor intensidade de coloração em comparação com a próstata normal, quando a coloração está presente, o anticorpo NKX3.1 possui um marcador tecidual altamente sensível específico para o adenocarcinoma da próstata. Com base no acima exposto, o anticorpo NKX3.1 é útil para diferenciar o adenocarcinoma da próstata do carcinoma urotelial com uma sensibilidade que varia entre 92-94%, juntamente com uma especificidade de 100%. Um estudo recente também demonstrou a utilidade do NKX3.1 para a identificação de adenocarcinoma da próstata metastático (com sensibilidade e especificidade de 98% e 99%, respectivamente). Comparado aos marcadores PSA e PSAP convencionais, o anticorpo NKX3.1 tem maior sensibilidade e especificidade, especialmente na identificação de adenocarcinomas de próstata pouco diferenciados, de modo que combinados em um painel com PSA e PSAP, todos os adenocarcinomas de próstata metastáticos foram positivos para pelo menos um destes marcadores. Casos isolados de carcinoma lobular da mama foram relatados com positividade fraca e focal.

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 IHC 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 (Muscae Plus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath) ou Diva (Biocare), 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 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 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. He WW, Scivolino PJ, Wing J, Augustus M, Hudson P, Meissner PS, Curtis RT, Shell BK, Bostwick DG, Tindall DJ, Gelmann EP, Abate-Shen C, Carter KC. A novel human prostate-specific, androgen-regulated homeobox gene (NKX3.1) that maps to 8p21, a region frequently deleted in prostate cancer. *Genomics*. 1997 Jul 1;43(1):69-77.
2. Abdulkadir SA, Magee JA, Peters TJ, Kaleem Z, Naughton CK, Humphrey PA, Milbrandt J. Conditional loss of Nkx3.1 in adult mice induces prostatic intraepithelial neoplasia. *Mol Cell Biol*. 2002 Mar;22(5):1495-503
3. Asch-Kendrick RJ, Samols MA, Lilo MT, Subhawong AP, Sharma R, Illei PB, Argani P, Cimino-Mathews A. NKX3.1 is expressed in ER-positive and AR-positive primary breast carcinomas. *J Clin Pathol*. 2014 Sep;67(9):768-71.
4. Bieberich CJ, Fujita K, He WW, Jay G. Prostate-specific and androgen-dependent expression of a novel homeobox gene. *J Biol Chem*. 1996 Dec 13;271(50):31779-825. Gelmann EP, Bowen C, Bubendorf L. Expression of NKX3.1 in normal and malignant tissues. *Prostate*. 2003 May 1;55(2):111-7
6. Gurel B, Ali TZ, Montgomery EA, Begum S, Hicks J, Goggins M, Eberhart CG, Clark DP, Bieberich CJ, Epstein JI, De Marzo AM. NKX3.1 as a marker of prostatic origin in metastatic tumors. *Am J Surg Pathol*. 2010 Aug;34(8):1097-1057. Jia L, Jiang Y, Michael CW. Performance of different prostate specific antibodies in the cytological diagnosis of metastatic prostate adenocarcinoma. *Diagn Cytopathol*. 2017 Nov;45(11):998-1004.