

## Proteína Olig 2 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (211F1.1)

Mouse anti-human Olig 2 Protein Monoclonal Antibody (Clone 211F1.1)

Código	EP-12-52273	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	211F1.1
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG2ak
• Imunógeno	:	-
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Córtex cerebral
• Marcação	:	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:

O Olig2, um fator básico de transcrição helix-loop-helix, está envolvido na especificação oligodendroglial. A expressão de Olig2 foi relatada na maioria dos tumores gliais, como oligodendrogliomas e astrocitomas. Embora mais da metade dos glioblastomas sejam positivos para o Olig2, a expressão é muito fraca em termos de porcentagem de células marcadas e intensidade. Nenhuma expressão de Olig2 foi encontrada nos tumores não-gliais, incluindo tumores neuroepiteliais, ependimomas, subependimomas, meduloblastomas, tumores não neuroepiteliais, como os linfomas do SNC, os meningiomas, schwannomas, tumor teratoide / rabdoide atípico e hemangioblastomas. Em comparação com a forte coloração observada nas amostras de glioma, observa-se uma expressão fraca no tecido cerebral não tumoral (gliose). Para caracterizar os subtipos celulares que constituem astrocitomas, oligoastrocitomas e oligodendrogliomas, foi realizada dupla marcação de Olig2 e GFAP, que identificou duas populações tumorais fenotipicamente distintas. O primeiro é o Olig2+ / GFAP - que possui uma morfologia oligodendroglial, correspondendo a oligodendrogliomas puros que contêm apenas células oligodendrogliais; o segundo é o Olig2- / GFAP +, que tem um fenótipo astrocítico, incluindo não apenas oligoastrocitomas, mas também astrocitomas. Dependendo da proporção e agrupamento espacial das duas populações tumorais fenotipicamente distintas, o tumor (Olig2- / GFAP +) é classificado como um astrocitoma quando ambas as populações se misturam com uma dominância de células GFAP + ou oligoastrocitoma quando há algum grau de agrupamento espacial de as células GFAP +.

### 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 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 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. Marie Y, Sanson M, Mokhtari K, Leuraud P, Kujas M, Delattre JY, Poirier J, Zalc B, Hoang-Xuan K. OLIG2 as a specific marker of oligodendroglial tumour cells. *Lancet*. 2001 Jul 28;358(9278):298-300
2. Georgieva L, Moskvina V, Peirce T, Norton N, Bray NJ, Jones L, Holmans P, Macgregor S, Zammit S, Wilkinson J, Williams H, Nikolov I, Williams N, Ivanov D, Davis KL, Haroutunian V, Buxbaum JD, Craddock N, Kirov G, Owen MJ, O'Donovan MC. Convergent evidence that oligodendrocyte lineage transcription factor 2 (OLIG2) and interacting genes influence susceptibility to schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Aug 15;103(33):12469-74
3. Ono K, Takebayashi H, Ikeda K, Furusho M, Nishizawa T, Watanabe K, Ikenaka K. Regional- and temporaldependent changes in the differentiation of Olig2 progenitors in the forebrain, and the impact on astrocyte development in the dorsal pallium. *Dev Biol*. 2008 Aug 15;320(2):456-68
4. Lu QR, Park JK, Noll E, Chan JA, Alberta J, Yuk D, Alzamora MG, Louis DN, Stiles CD, Rowitch DH, Black PM. Oligodendrocyte lineage genes (OLIG) as molecular markers for human glial brain tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Sep 11;98(19):10851-6
5. Yokoo H, Nobusawa S, Takebayashi H, Ikenaka K, Isoda K, Kamiya M, Sasaki A, Hirato J, Nakazato Y. Anti-human Olig2 antibody as a useful immunohistochemical marker of normal oligodendrocytes and gliomas. *Am J Pathol*. 2004 May;164(5):1717-25
6. Otero JJ, Rowitch D, Vandenberg S. OLIG2 is differentially expressed in pediatric astrocytic and in ependymal neoplasms. *J Neurooncol*. 2011 Sep;104(2):423-38