

## SPARC (Osteonectina) – Anticorpo Policlonal anti-humano

Rabbit anti-human SPARC (Osteonectin) Antibody (Polyclonal)

Código	EP-12-52903	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	Policlonal
• Isotipo Ig	:	IgG
• Imunógeno	:	Marca de assinatura de epítipo de proteína recombinante precursora SPARC (PrEST).
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção normal do tecido testicular.
• Marcação	:	Citoplasma 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:

Este anticorpo reconhece uma proteína secretada rica em cisteína ácida humana conhecida como SPARC (proteína secretada ácida e rica em cisteína), osteonectina ou BM-40 (Proteína da membrana basal 40). É uma glicoproteína de ligação ao cálcio multifuncional com uma massa molecular de 43 kDa que é codificada por um gene que está localizado na região cromossômica 5q33.1. Em condições normais, a osteonectina é depositada na matriz extracelular e próxima a ou nas membranas basais e é secretada por vários tipos de células. A proteína SPARC desempenha um papel importante na mineralização óssea e organização da cartilagem, bem como nas interações e remodelação da matriz extracelular, através de sua capacidade de aumentar a produção e atividade de metaloproteínas e de se ligar ao colágeno. A proteína SPARC desempenha um papel importante na mineralização óssea e organização da cartilagem, bem como nas interações e remodelação da matriz extracelular, através de sua capacidade de aumentar a produção e atividade de metaloproteínas e de se ligar ao colágeno. É, portanto, um elemento chave na cicatrização de feridas, tem um efeito antiproliferativo geral por induzir a diferenciação celular e atua como um modulador de certas populações de células submetidas à migração durante a morfogênese. Em tecidos normais, a osteonectina é abundantemente secretada por osteoblastos e odontoblastos. Esta proteína também é expressa em células da superfície ovariana, células endoteliais de vasos de tamanho médio, podócitos, megacariócitos medulares, brônquios, macrófagos alveolares e outros tecidos normais. O mRNA de osteonectina foi detectado no córtex adrenal (células produtoras de esteróides) e por hibridização *in situ* em fibroblastos, músculo liso e células endoteliais dérmicas. Em tecidos tumorais, como osteossarcoma (principalmente osteossarcoma osteoblástico), carcinoma hepatocelular (fígado normal negativo), tumores da ampola de Vater, carcinomas de ovário e nasofaringe, meningiomas, espessura mínima de melanoma e carcinoma da língua. A superexpressão da SPARC tem sido diretamente correlacionada com um menor grau de malignidade, capacidade invasiva e risco de recorrência; Tumores com menor expressão de SPARC, por outro lado, estão associados a pior prognóstico. Curiosamente, nos adenocarcinomas do pâncreas e do cólon e nos cânceres do pulmão de células não pequenas, apenas a expressão de SPARC no estroma peritumoral está associada a uma melhor sobrevivência. Em tumores de mama, a osteonectina é expressa em uma baixa proporção de carcinomas ductais *in situ* e na maioria dos tumores filóides de alto grau e no componente mesenquimal de carcinomas metaplásicos. Em carcinomas com genótipos luminal A ou tripló negativo, uma baixa expressão desse anticorpo está correlacionada com pior prognóstico, enquanto nos carcinomas ductais *in situ*, a expressão de osteonectina no estroma peritumoral está relacionada a uma menor recorrência das lesões. Observa-se forte coloração positiva em astrocitomas de baixo grau com diminuição progressiva da coloração em casos de maior grau, mas com coloração aumentada em vasos tumorais. A expressão de osteonectina também foi detectada em condrossarcomas, sarcomas de Ewing, fibrossarcomas, rabdomiossarcomas e leiomiossarcomas.

### 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 - 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 comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.



Câmara pressurizada MuscaePlus (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](http://www.grupoerviegas.com.br).

#### Referências Bibliográficas

1. Swaroop A, Hogan BL, Francke U. Molecular analysis of the cDNA for human SPARC/osteonectin/BM-40: sequence, expression, and localization of the gene to chromosome 5q31-q33. *Genomics*. 1988;2:37-47
2. Schulz A, Jundt G, Berghäuser KH, Gehron-Robey P, Termine JD. Immunohistochemical study of osteonectin in various types of osteosarcoma. *American Journal of Pathology*. 132(2): 233-238. 1988.
3. Mundlos S, Schwahn B, Reichert T, Zabel B. Distribution of osteonectin mRNA and protein during human embryonic and fetal development. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 40(2): 283-291. 1992.
4. Frizell E, Liu SL, Abraham A, Ozaki I, Eghbali M, Sage EH, Zern MA. Expression of SPARC in normal and fibrotic livers. *Hepatology*. 21 (3): 847-854. 1995.
5. Peggy L. Porter PI, Sage EH, Lane TE, Funk SE, Gown AM. Distribution of SPARC in Normal and Neoplastic Human Tissue. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 43(8): 791-800. 1995.
6. Fanburg JC, Rosenberg AE, Weaver DL, Leslie KO, Mann KG, Taatjes DJ, Tracy RP. Osteocalcin and osteonectin immunoreactivity in the diagnosis of osteosarcoma. *Journal of Clinical Pathology*. 108: 464-473. 1997.
7. Hunzelmann N, Hafner M, Anders S, Krieg T, Nischt R. BM-40 (osteonectin, SPARC) is expressed both in the epidermal and in the dermal compartment of adult human skin. *Journal of Investigative Dermatology*. 110: 122-126. 1998.
8. Le Bail B, Faouzi S, Boussarie L, Guirouilh J, Blanc JF, Carles J, Bioulac-Sage P, Balabaud C, Rosenbaum J. Osteonectin/SPARC is overexpressed in human hepatocellular carcinoma. *Journal of Pathology*. 189: 46-52. 1999.
9. Massi D, Franchi A, Borgognoni L, Reali UM, Santucci M. Osteonectin expression correlates with clinical outcome in thin cutaneous malignant melanomas. *Human Pathology*. 30 (3): 339-344. 1999.
10. Rempel S A, Ge S and Gutiérrez J A. SPARC: a potential diagnostic marker of invasive meningiomas. *Clinical Cancer Research*. 5: 237-241. 1999.
11. Yiu GK, Chan WY, Ng SW, Chan PS, Cheung KK, Berkowitz RS, Mok SC. SPARC (secreted protein acidic and rich in cysteine) induces apoptosis in ovarian cancer cells. *American Journal of Pathology*. 159(2): 609-622. 2001.
12. Bloomston M, Ellison EC, Muscarella P, Al-Saif O, Martin EW, Melvin WS, Frankel WL. Stromal osteonectin overexpression is associated with poor outcome in patients with ampullary cancer. *Ann Surg Oncol*; 14(1):211-217. 2007.
13. Bozkurt SU, Ayan E, Bolukbasi F, Elmaci I, Pamir N, Sav A. Immunohistochemical expression of SPARC is correlated with recurrence, survival and malignant potential in meningiomas. *APMIS*; 117(9): 651-659. 2009.
14. Wang HY, Li YY, Shao Q, Hou JH, Wang F, Cai MB, Zeng YX, Shao JY. Secreted protein acidic and rich in cysteine (SPARC) is associated with nasopharyngeal carcinoma metastasis and poor prognosis. *J Transl Med*. 2012;10:27
15. Nagai MA, Gerhard R, Fregnani JH, Nonogaki S, Rierger RB, Netto MM, Soares FA. Prognostic value of NDRG1 and SPARC protein expression in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat*. 2011;126:1-14
16. Witkiewicz AK, Freydin B, Chervoneva I, Potoczek M, Rizzo W, Rui H, Brody JR, Schwartz GF, Lisanti MP. Stromal CD10 and SPARC expression in ductal carcinoma in situ (DCIS) patients predicts disease recurrence. *Cancer Biol Ther*. 2010;10:391-396

17. Hsiao YH, Lien HC, Hwa HL, Kuo WH, Chang KJ, Hsieh FJ. SPARC (osteonectin) in breast tumors of different histologic types and its role in the outcome of invasive ductal carcinoma. *Breast J.* 2010;16:305-308

18. Capper D, Mittelbronn M, Goepfert B, Meyermann R, Schittenhelm J. Secreted protein, acidic and rich in cysteine (SPARC) expression in astrocytic tumour cells negatively correlates with proliferation, while vascular SPARC expression is associated with patient survival. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2010;36:183-197

19. Liang JF, Wang HK, Xiao H, Li N, Cheng CX, Zhao YZ, Ma YB, Gao JZ, Bai RB, Zheng HX. Relationship and prognostic significance of SPARC and VEGF protein expression in colon cancer. *J Exp Clin Cancer Res.* 2010;29:71

