

ARG-1 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Arginase-1 Clone (EP261)

Rabbit anti-human Arginase-1 (ARG-1) - Monoclonal Antibody (Clone EP261)

Código	EP-12-50143	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP261
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Um péptido sintético correspondente a resíduos na proteína ARG-1 humana.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Fígado
• Marcação	:	Citoplasma e núcleos celulares

Aplicações conhecidas

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

Especificações:

A Arginase é uma metaloenzima de manganês que catalisa a hidrólise de arginina para gerar ornitina e ureia. Arginase I e II são isoenzimas que diferem na localização subcelular, regulação e possivelmente função. A arginase I é uma enzima citosólica, que é expressa principalmente no fígado como parte do ciclo da ureia, enquanto a arginase II é uma proteína mitocondrial encontrada em uma variedade de tecidos. Anticorpo para ARG-1 rotula hepatócitos em tecidos normais e granulócitos no sangue periférico. A ARG-1 é um marcador sensível e específico para identificação de carcinoma hepatocelular. Este anticorpo é muito útil para distinguir entre: 1) metástases hepáticas de vários adenocarcinomas e carcinoma hepatocelular (HCC), o que pode ser um verdadeiro desafio diagnóstico, especialmente em biópsias pequenas ou material de aspiração por agulha fina (FNA) e 2) A distinção entre diferentes variantes histológicas do HCC e colangiocarcinoma. Especificamente, o anticorpo ARG-1 é fundamental no diagnóstico do carcinoma hepatocelular, onde os marcadores específicos para adenocarcinomas são geralmente positivos, enquanto o HepPar-1, em alguns casos, pode ser negativo. Além disso, vários estudos mostraram que o anticorpo ARG-1 é mais sensível do que HepPar-1 para diagnóstico imuno-histoquímico de carcinoma hepatocelular enquanto o segundo é geralmente negativo em carcinomas hepatocelulares pouco diferenciados e pode ser positivo em adenocarcinomas de origem pancreática, gástrica, cólica ou mesmo colangiocarcinoma. Entretanto, casos isolados de doença pancreática adenocarcinomas e colangiocarcinomas apresentaram coloração focal contra o ARG-1. Nesta linha, deve-se considerar que o anticorpo ARG-1 não permite o diagnóstico diferencial entre lesões benignas, displásicas e malignas de hepatócitos.

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 entrarem 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 seção de tecido. As recomendações e protocolos da literatura são baseados em uso exclusivo de produtos EasyPath. Em última análise, é responsabilidade do investigador 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 1 hora, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada
- 2 - Recuperação antigênica - Colocar 600ml de água destilada na panela elétrica (Muscae Plus/Easy Path) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath), tampar a panela e deixar 10 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 (Easy Path) 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. Sparkes RS, Dizikes GJ, Klisak I, Grody WW, Mohandas T, Heinzmann C, Zollman S, Lusic AJ, Cederbaum SD. The gene for human liver arginase (ARG1) is assigned to chromosome band 6q23. *Am J Hum Genet.* 1986 Aug;39(2):186-93
2. Grody WW, Klein D, Dodson AE, Kern RM, Wissmann PB, Goodman BK, Bassand P, Marescau B, Kang SS, Leonard JV, et al. Molecular genetic study of human arginase deficiency. *Am J Hum Genet.* 1992 Jun;50(6):1281-90
3. Uchino T, Haraguchi Y, Aparicio JM, Mizutani N, Higashikawa M, Naitoh H, Mori M, Matsuda I. Three novel mutations in the liver-type arginase gene in three unrelated Japanese patients with argininemia. *Am J Hum Genet.* 1992 Dec;51(6):1406-12
4. Uchino T, Snyderman SE, Lambert M, Qureshi IA, Shapira SK, Sansaricq C, Smit LM, Jakobs C, Matsuda I. Molecular basis of phenotypic variation in patients with argininemia. *Hum Genet.* 1995 Sep;96(3):255-60
5. Krings G, Ramachandran R, Jain D, Wu TT, Yeh MM, Torbenson M, Kakar S. Immunohistochemical pitfalls and the importance of glypican 3 and arginase in the diagnosis of scirrhous hepatocellular carcinoma. *Mod Pathol.* 2013 Jun;26(6):782-91
6. Fatima N, Cohen C, Siddiqui MT. Arginase-1: a highly specific marker separating pancreatic adenocarcinoma from hepatocellular carcinoma. *Acta Cytol.* 2014;58(1):83-8
7. Timek DT, Shi J, Liu H, Lin F. Arginase-1, HepPar-1, and Glypican-3 are the most effective panel of markers in distinguishing hepatocellular carcinoma from metastatic tumor on fine-needle aspiration specimens. *Am J Clin Pathol.* 2012 Aug;138(2):203-10
8. Fujiwara M, Kwok S, Yano H, Pai RK. Arginase-1 is a more sensitive marker of hepatic differentiation than HepPar-1 and glypican-3 in fine-needle aspiration biopsies. *Cancer Cytopathol.* 2012 Aug 25;120(4):230-7
9. Radwan NA, Ahmed NS. The diagnostic value of arginase-1 immunostaining in differentiating hepatocellular carcinoma from metastatic carcinoma and cholangiocarcinoma as compared to HepPar-1. *Diagn Pathol.* 2012 Oct 30;