

## BRST-1/BCA-225 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (CU-18)

Mouse anti-human BRST-1/BCA-225 Monoclonal Antibody (Clone CU-18)

Código	EP-12-50213	1ml
• Diluição recomendada	:	1:20
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	CU-18
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1/ Kappa
• Imunógeno	:	Proteína BCA 225 segregada pela linha celular de carcinoma da mama humana T47D (clone 11).
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção de tecido de carcinoma da mama.
• 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 o BCA-225, uma glicoproteína com massa molecular de 225 kD secretada pela linhagem celular de carcinoma mamário T47D que foi posteriormente identificada em vários tecidos normais e neoplásicos. Nos tecidos normais dos rins, pulmões, tubas uterinas, fígado, pele (glândulas sudoríparas) e útero, a coloração é observada no glicocálix. O BRST-1 é considerado um marcador altamente sensível, mas não específico, de tecido mamário e seus tumores, por isso deve sempre ser usado como parte de um amplo painel de marcadores complementares. A coloração intracitoplasmática é observada em mais de 95% dos carcinomas de mama, tanto no tumor primário como em suas metástases, no rim (94%), ovário (80%) e pulmão (74%). Padrões de coloração semelhantes, mas menos frequentes (cerca de 50%) são observados em adenocarcinomas da próstata, ductos biliares, glândula tireóide, endométrio, endocérvice e pâncreas. O BRST-1 é raramente expresso em adenocarcinomas do trato digestivo e em hepatocarcinomas, e não está presente em sarcomas de tecidos moles ou linfomas.

### 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 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 - 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 (Muscae Plus/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 Muscae Plus (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. Mesa-Tejada R, Palakodety RB, Leon JA, Khatcherian AO, Greaton CJ: Immunocytochemical distribution of a breast carcinoma associated glycoprotein identified by monoclonal antibodies. *Am J Pathol.* 130:305-14 (1988).
2. Loy TS, Diaz-Arias AA, Bickel JT: Value of BCA-225 in the cytologic diagnosis of malignant effusions: an immunocytochemical study of 197 cases. *Mod Pathol.* 3:294-7 (1990).
3. Loy TS, Chapman RK, Diaz-Arias AA, Bulatao IS, Bickel JT: Distribution of BCA-225 in adenocarcinomas. An immunohistochemical study of 446 cases. *Am J Clin Pathol.* 96:326-9 (1991).
4. Akasofu M, Kawahara E, Kurumaya H, Nakanishi I: Immunohistochemical detection of breast specific antigens and cytokeratins in metastatic breast carcinoma in the liver. *Acta Pathol Jpn.* 43:736-44 (1993).
5. Iwase H, Kobayashi S, Itoh Y, Fukuoka H, Kuzushima T, Iwata H, Yamashita T, Naitoh A, Itoh K, Masaoka A: Evaluation of serum tumor markers in patients with advanced or recurrent breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 33:83-8 (1995).
6. Yin C, Chapman J, Tawfik O: Invasive mucinous (colloid) adenocarcinoma of ectopic breast tissue in the vulva: a case report. *Breast J.* 9:113-5 (2003).