

c-erbB-2/HER2 – Anticorpo Monoclonal – Clone (SP3)

Rabbit-anti-human c-erbB-2/HER2 – Monoclonal Antibody

Códigos	EP-12-50933	1ml	1:50 - 1:150	concentrado
	EP-12-50931	0.1ml	1:50 - 1:150	concentrado
	EP-12-50936	6ml	Diluído	pronto para uso

- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : SP3
- Isotipo Ig : Coelho IgG
- Imunógeno : Codificação proteica recombinante domínio extracelular de c-erbB2 humano.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Seção de tecido de carcinoma de mama com superexpressão da oncoproteína
- Marcação : Membrana citoplasmática

Aplicações conhecidas

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

Especificações:

C-erbB-2 é um receptor de tirosina quinase da família c-erbB. O C-erbB-2 é um proto-oncogene localizado no cromossomo humano 17, banda 21. Tem semelhanças estruturais com o receptor EGFR (Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico). A coloração imuno-histoquímica da oncoproteína está relacionada à amplificação gênica. Diferentes estudos demonstraram que a detecção imuno-histoquímica em mais de 20% dos adenocarcinomas de diferentes locais, incluindo ovariano, do trato gastrointestinal e da mama. No caso do câncer de mama, a superexpressão tem se mostrado associada a um mau prognóstico, mas também a tratamentos específicos. Este anticorpo é recomendado para determinar os níveis de expressão da oncoproteína C-erb B-2 em adenocarcinomas de mama e outros locais.

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 (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.

Dois 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.

Bibliografia

1. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 237 :177-182 (1987).
2. Gusterson BA, Gullick WJ, Venter DJ, Powles TJ, Elliott C, Ashley S, Tidy A, Harrison S. Immunohistochemical localization of c-erbB-2 in human breast carcinomas. *Molecular and Cellular Probes*. 2 :383-391 (1987).
3. Wright C, Angus B, Nicholson S, Sainsbury JR, Cairns J, Gullick WJ, Kelly P, Harris AL, Horne CH. Expression of c-erbB-2 oncoprotein: a prognostic indicator in human breast cancer. *Cancer Research*. 49 :2087-2090 (1989).
4. Slamon DJ, Godolphin W, Jones LA, Holt JA, Wong SG, Keith DE, Levin WJ, Stuart SG, Udove J, Ullrich A. Studies of the HER-2/neu proto-oncogene in human breast cancer. *Cancer Cells 7/Molecular Diagnostics of Human Cancer*. Cold Spring Harbor Laboratory. (1989).
5. McGuire H C and Greene M I. The neu (c-erbB2) oncogene. *Seminars in Oncology*. 16(2):148-155 (1989).
6. Barnes D M. Breast cancer and a proto-oncogene. *British Medical Journal*. 299 :1061-1062 (1989).
7. Corbett IP, Henry JA, Angus B, Watchorn CJ, Wilkinson L, Hennessy C, Gullick WJ, Tuzi NL, May FE, Westley BR. NCL-CB11: A new monoclonal antibody recognising the internal domain of the c-erbB-2 oncogene protein, effective for use on formalin fixed, paraffin embedded tissue. *Journal of Pathology*. 161 :15-25 (1990).
8. Wright C, Nicholson S, Angus B, Sainsbury JR, Farndon J, Cairns J, Harris AL, Horne CH. Relationship between c-erbB-2 oncoprotein expression and response to endocrine therapy in advanced breast cancer. *British Journal of Cancer*. 65 :118-121 (1992).
9. Etorh A, Parache RM, Migeon C, N'Sossani B, Rihn B. Expression of the c-erbB-2 oncoprotein in mammary Paget's disease. Immunohistochemical study by using 3 antibodies. *Pathol. Biol*. 43 (7):584-589 (1995).
10. Crosier M, Scott D, Wilson RG, Griffiths CD, May FE, Westley BR. High expression of the trefoil protein TFF1 in interval breast cancers. *American Journal of Pathology*. 159 (1):215-221 (2001).
11. Faló C, Moreno A, Lloveras B, Figueras A, Varela M, Escobedo A. Algorithm for the diagnosis of HER-2/neu status in breast-infiltrating carcinomas. *Am J Clin Oncol*. 26:465-70 (2003).
12. Varga Z, Zhao J, Ohlschlegel C, Odermatt B, Heitz PU. Preferential HER-2/neu overexpression and/or amplification in aggressive histological subtypes of invasive breast cancer. *Histopathology*. 44:332-338 (2004).