

ERCC1 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (SP68)

Rabbit anti-human ERCC1 Monoclonal Antibody (Clone SP68)

Código	EP-12-51373	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	SP68
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Proteína ERCC1 humana recombinante.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Rim, Carcinoma pulmonar
• Marcação	:	Nuclear

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 Nucleotide Excision Repair (NER) é um mecanismo versátil capaz de reconhecer e eliminar o DNA danificado, mais comumente causado por radiações UV. O ERCC1 é uma das três endonucleases que catalisam este processo. O gene ERCC1 está localizado na região cromossômica 19q13.3-q13.2 e codifica uma proteína de 297 aminoácidos e cerca de 32,5 kDa de peso molecular. Embora existam poucos estudos imunohistoquímicos com anticorpos contra o ERCC1, parece que tumores com expressão imunoistoquímica intensa e extensa dessa molécula têm pior prognóstico e são resistentes à terapia baseada em platina. Estes tumores incluem adenocarcinomas de pulmão de células não muito pequenas, adenocarcinomas do trato gastrointestinal, carcinomas da mama, da bexiga e do córtex adrenal e carcinomas do trato genital em estágio avançado.

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 8,5 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 horizontal, 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 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. Li L, Elledge SJ, Peterson CA, Bales ES, Legerski RJ. Specific association between the human DNA repair proteins XPA and ERCC1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994 May 24;91(11):5012-6
2. Jaspers NG, Raams A, Silengo MC, Wijgers N, Niedernhofer LJ, Robinson AR, Giglia-Mari G, Hoogstraten D, Kleijer WJ, Hoeijmakers JH, Vermeulen W. First reported patient with human ERCC1 deficiency has cerebro-oculo-facio-skeletal syndrome with a mild defect in nucleotide excision repair and severe developmental failure. *Am J Hum Genet*. 2007 Mar;80(3):457-66
3. Gossage L, Madhusudan S. Current status of excision repair cross complementing-group 1 (ERCC1) in cancer. *Cancer Treat Rev*. 2007 Oct;33(6):565-77
4. Jun HJ, Ahn MJ, Kim HS, Yi SY, Han J, Lee SK, Ahn YC, Jeong HS, Son YI, Baek JH, Park K. ERCC1 expression as a predictive marker of squamous cell carcinoma of the head and neck treated with cisplatin-based concurrent chemoradiation. *Br J Cancer*. 2008 Jul 8;99(1):167-72
5. Zhou W, Gurubhagavatula S, Liu G, Park S, Neuberg DS, Wain JC, Lynch TJ, Su L, Christiani DC. Excision repair cross-complementation group 1 polymorphism predicts overall survival in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res*. 2004 Aug 1;10(15):4939-43
6. Ronchi CL, Sbiera S, Kraus L, Wortmann S, Johanssen S, Adam P, Willenberg HS, Hahner S, Allolio B, Fassnacht M. Expression of excision repair cross complementing group 1 and prognosis in adrenocortical carcinoma patients treated with platinum-based chemotherapy. *Endocr Relat Cancer*. 2009 Sep;16(3):907-18
7. Roth JA, Carlson JJ. Prognostic role of ERCC1 in advanced non-small-cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Lung Cancer*. 2011 Nov;12(6):393-401
8. Ozkan C, Gumuskaya B, Yaman S, Aksoy S, Guler G, Altundag K. ERCC1 expression in triple negative breast cancer. *J BUON*. 2012 Apr-Jun;17(2):271-6