

GATA3 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (L50-823)

Mouse anti-human GATA3 Monoclonal Antibody (Clone L50-823)

Código	EP-12-51491	0.1 mL	1:50 – 1:80	Concentrado
	EP-12-51493	1 mL	1:50 – 1:80	Concentrado
	EP-12-51496	6 mL	Diluído	Pronto para uso

- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : L50-823
- Isotipo Ig : Camundongo IgG1/k
- Imunógeno : Peptídeo conservado entre a transativação do GATA e o domínio de ligação ao DNA.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Urotélio normal, mama ou amígdala
- 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 GATA3 (proteína 3 de ligação ao GATA à sequência de DNA [A / T] GATA [A / G]) é um factor de transcrição do dedo de zinco e desempenha um papel importante na promoção e orientação da proliferação, desenvolvimento e diferenciação celular em muitos tecidos e tipos de células. A expressão do GATA3 principalmente observada em carcinoma da mama e carcinoma urotelial e apenas raramente encontrada em tumores de outros gs, tais como adenocarcinoma endometrioidal endometrial ou tumores do saco vitelino. No sistema linfóide, a expressão do gene GATA-3 promove as células T receptoras e induz a ativação de células T helper tipo 2. O GATA3 é expresso em todos os carcinomas lobulares da mama e em 91% dos carcinomas ductais invasivos (grau I, 100%; grau II, 89% e grau III, 86% 1-2). A expressão de GATA3 parece ser menor no carcinoma de mama subtipo B luminal. Também foi relatado que a expressão de GATA3 está correlacionada com o status de ER, PR e Her2 no carcinoma de mama. A expressão de GATA3 é encontrada no carcinoma urotelial, especialmente em tumores invasivos e de alto grau. Portanto, anti-GATA3 pode ser usado em um painel de anticorpos para diagnóstico de carcinoma primário desconhecido, quando os carcinomas da mama ou da bexiga são uma possibilidade. Estudos isolados demonstraram a utilidade do GATA-3, juntamente com o marcador T-bet para diferenciar entre colite linfocítica e doença celíaca. Em tumores de células germinativas, áreas glandulares de diferenciação endodérmica e trofoblástica podem ser coradas. O GATA 3 também é positivo em muitos tecidos, como tumores da paratireóide ou da glândula salivar; mucinoso e não mucinoso adenocarcinomas pancreáticos, carcinomas espinocelulares, carcinomas basocelulares, carcinomas cromofóbicos do rim, mesoteliomas, papilares pouco diferenciados, ou adenocarcinomas mucinosos do pulmão, carcinomas do estômago, cólon, próstata, endométrio, tireóide, seroso e Brenner tumores ovarianos benignos e limitrofes.

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 - 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 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 coloração horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05021.

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.

Referências Bibliográficas

1. Van Esch H, Devriendt K. Transcription factor GATA3 and the human HDR syndrome. *Cell Mol Life Sci.* 2001;58:1296-1300
2. Usary J, Llaca V, Karaca G, Presswala S, Karaca M, He X, Langerød A, Kåresen R, Oh DS, Dressler LG, Lønning PE, Strausberg RL, Chanock S, Børresen-Dale AL, Perou CM. Mutation of GATA3 in human breast tumors. *Oncogene.* 2004 ;23:7669-7678
3. YoonNK, Maresh EL, Shen D, Elshimali Y, Apple S, Horvath S, Mah V, Bose S, Chia D, Chang HR, Goodglick L. Higher levels of GATA3 predict better survival in women with breast cancer. *Hum Pathol.* 2010;41:1794-801
4. Charles N, Watford WT, Ramos HL, Hellman L, Oettgen HC, Gomez G, Ryan JJ, O'Shea JJ, Rivera J. Lyn kinase controls basophil GATA-3 transcription factor expression and induction of Th2 cell differentiation. *Immunity.* 2009 ;30:533-543
5. Shen SS, Truong LD, Scarpelli M, Lopez-Beltran A. Role of immunohistochemistry in diagnosing renal neoplasms: when is it really useful? *Arch Pathol Lab Med.* 2012;136:410-417
6. Jöhrens K, Grünbaum M, Anagnostopoulos I. Differences in the T-bet and GATA-3 expression patterns between lymphocytic colitis and coeliac disease. *Virchows Arch.* 2010;457:451-456
7. Hoene V, Fischer M, Ivanova A, Wallach T, Berthold F, Dame C. GATA factors in human neuroblastoma: distinctive expression patterns in clinical subtypes. *Br J Cancer.* 2009 20;101:1481-1489
8. Inman D, Kawana K, Schust D, Lininger R, Young S. Cyclic regulation of T-Bet and GATA-3 in human endometrium. *Reprod Sci.* 2008;15:83-90
9. Chang A, Amin A, Gabrielson E, Illei P, Roden RB, Sharma R, Epstein JI. Utility of GATA3 immunohistochemistry in differentiating urothelial carcinoma from prostate adenocarcinoma and squamous cell carcinomas of the uterine cervix, anus, and lung. *Am J Surg Pathol.* 2012;36:1472-1476
10. Feng Q, Wei H, Morihara J, Stern J, Yu M, Kiviat N, Hellstrom I, Hellstrom KE. Th2 type inflammation promotes the gradual progression of HPV-infected cervical cells to cervical carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2012;127:412-419