

Glypican 3 - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (1G12)

Mouse anti-human Glypican 3 Monoclonal Antibody (Clone 1G12)

Código	EP-12-51563	1ml
• Diluição recomendada	:	1:100
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	1G12
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1
• Imunógeno	:	Murganhos Balb / C imunizados com uma injeção de 50 µg de um fragmento contendo os últimos 70 aminoácidos da proteína nuclear.
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Hepatocarcinoma da placenta
• Marcação	:	Citoplasma e Membrana 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:

O glicano 3 (GPC3) é um membro da família glicoproteína de proteoglicanos de sulfato de heparina de superfície celular ancorados a glicosil fosfatidilinositol. O anticorpo monoclonal 1G12 foi utilizado para avaliar a expressão de GPC3 em amostras de tecido hepático maligno e não maligno e para ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de GPC3 no soro. Estudos mostraram que o GPC3 é expresso no nível de proteína na maioria dos CHCs, mas é indetectável em fígado normal e lesões hepáticas benignas, incluindo displásicos e nódulos cirróticos. Além disso, o GPC3 é significativamente elevado no soro de uma grande proporção de pacientes com CHC. Com base nesses resultados, foi proposto que o GPC3 poderia ser um marcador útil para diferenciar entre doenças hepáticas benignas e malignas. O GPC3 é expresso na grande maioria dos tumores do saco vitelino gonadal. O componente endodérmico dos casos de carcinoma endometrióide endometrial ou ovariano com também mostra intensa positividade citoplasmática e / ou de membrana. É positivo em casos esporádicos de coriocarcinoma e apresenta positividade focal em carcinomas embrionários e teratomas imaturos; não se expressa em seminomas uma neoplasia de células germinativas intratubular. Os casos isolados de seminomas espermatocíticos mostram uma positividade fraca. Outros tumores de origem gonadal que podem expressar GPC3 são carcinomas endometrioides, de células claras, mucinosos ou serosos. 80% dos tumores trofoblásticos no local da placenta e 100% dos nódulos do local da placenta uterina também são positivos. 80% dos tumores trofoblásticos no local da placenta e 100% dos nódulos do local da placenta uterina também são positivos. Em outros tumores não ginecológicos, a GPC3 é expressa em 23% dos carcinomas pulmonares (55% dos carcinomas espinocelulares e apenas 8% dos adenocarcinomas) e 3% dos carcinomas das células renais (carcinomas cromofóbicos). Juntamente com outros marcadores, como E-caderina (negativo) e β -catenina (nuclear e citoplasmático positivo), o GPC3 é um marcador útil no diagnóstico de tumores sólidos pseudopapilares do pâncreas e auxilia no diagnóstico diferencial de tumores neuroendócrinos. 34,7% de rhabdomyosarcoma, tipo embrionário mais freqüente, mostram positividade para este anticorpo enquanto outros tipos de sarcomas são negativos. Em um estudo recente, 52% dos lipossarcomas e 29% dos melanomas foram positivos. Percentagens variáveis de outros tumores epiteliais e mesenquimais mostraram positividade variável, demonstrando a falta de especificidade deste anticorpo e a necessidade de analisar os resultados em contexto com outras colorações de anticorpos.

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 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 incubação comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

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. Hughes-Benzie RM, Pilia G, Xuan JY, et al. Simpson-Golabi-Behmel syndrome: genotype/phenotype analysis of 18 affected males from 7 unrelated families. *Am J Med Genet*; 66: 227-234. 1996.
2. Khan S, Blackburn M, Mao DL, et al. Glypican-3 (GPC3) expression in human placenta: localization to the differentiated syncytiotrophoblast. *Histol Histopathol*; 16: 71-78. 2001.
3. Yamauchi N, Watanabe A, Hishinuma M, Ohashi K, Midorikawa Y, Morishita Y, Niki T, Shibahara J, Mori M, Makuuchi M, Hippo Y, Kodama T, Iwanari H, Aburatani H, Fukayama M. The glypican 3 oncofetal protein is a promising diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Mod Pathol*; 18(12): 1591-1598. 2005.
4. Filmus J, Capurro M, Rast J. Glypicans. *Genome Biol*; 9(5): 224. 2008.
5. Aviel-Ronen S, Lau SK, Pintilie M, et al. Glypican-3 is overexpressed in lung squamous cell carcinoma, but not in adenocarcinoma. *Mod Pathol*; 21: 817-825. 2008.
6. Baumhoer D, Tornillo L, Stadlmann S, Roncalli M, Diamantis EK, Terracciano LM. Glypican 3 expression in human nonneoplastic, preneoplastic, and neoplastic tissues: a tissue microarray analysis of 4,387 tissue samples. *Am J Clin Pathol*; 129(6): 899-906. 2008.
7. Esheba GE, Pate LL, Longacre TA. Oncofetal protein glypican-3 distinguishes yolk sac tumor from clear cell carcinoma of the ovary. *Am J Surg Pathol*; 32(4): 600-607. 2008.
8. Kandil DH, Cooper K. Glypican-3: a novel diagnostic marker for hepatocellular carcinoma and more. *Adv Anat Pathol*; 16(2): 125-129. 2009.
9. Maeda D, Ota S, Takazawa Y, Aburatani H, Nakagawa S, Yano T, Taketani Y, Kodama T, Fukayama M. Glypican-3 expression in clear cell adenocarcinoma of the ovary. *Mod Pathol*; 22(6): 824-832. 2009.
10. Umezue T, Shibata K, Kajiyama H, Yamamoto E, Nawa A, Kikkawa F. Glypican-3 expression predicts poor clinical outcome of patients with early-stage clear cell carcinoma of the ovary. *J Clin Pathol*; 63(11): 962-966. 2010.
11. Ou-Yang RJ, Hui P, Yang XJ, Zynger DL. Expression of glypican 3 in placental site trophoblastic tumor. *Diagn Pathol*; 5: 64. 2010.
12. Thway K, Selfe J, Missiaglia E, Fisher C, Shipley J. Glypican-3 is expressed in rhabdomyosarcomas but not adult spindle cell and pleomorphic sarcomas. *J Clin Pathol*; 64(7): 587-591. 2011.
13. Preda O, Nicolae A, Aneiros-Fernández J, Borda A, Nogales FF. Glypican 3 is a sensitive, but not a specific, marker for the diagnosis of yolk sac tumours. *Histopathology*; 58(2): 312-314. 2011.
14. Hav M, De Potter A, Ferdinande L, Van Bockstal M, Lem D, Eav S, Pattyn P, Praet M, Cuvelier C, Libbrecht L. Glypican-3 is a marker for solid pseudopapillary neoplasm of the pancreas. *Histopathology*; 59(6): 1278-1279. 2011.
15. Zhang L, Liu H, Sun L, Li N, Ding H, Zheng J. Glypican-3 as a potential differential diagnosis marker for hepatocellular carcinoma: A tissue microarray-based study. *Acta Histochem*. 2011 Nov 24.
16. Levy M, Trivedi A, Zhang J, Miles L, Mattis AN, Kim GE, Lassman C, Anders RA, Misdrayi J, Yerian LM, Xu H, Dhall D, Wang HL. Expression of glypican-3 in undifferentiated embryonal sarcoma and mesenchymal hamartoma of the liver. *Hum Pathol*. 2011 Sep 19.
17. Nogales FF, Preda O, Nicolae A. Yolk sac tumours revisited. A review of their many faces and names. *Histopathology*. 2011 Oct 18. doi:10.1111/j.1365-2559.2011.03889.x.