

## MUCIN 4 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Mucina 4

Mouse anti-human Mucin 4 (MUC4) Monoclonal Antibody (Clone 8G7)

Código	EP-12-52093	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	8G7
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1
• Imunógeno	:	Um péptido sintético dirigido contra as repetições em tandem de Mucin 4 de origem humana.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Secção tecidual intestino (cólon).
• Marcação	:	Citoplasma

### Aplicações conhecidas

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

### Especificações:

As mucinas são um grupo de glicoproteínas de alto peso molecular, consistindo de uma proteína central de mucina e carboidratos ligados a O.A mucina 4, uma mucina ligada à membrana, é o homólogo humano do complexo de sialomucina de rato (SMC). A proteína Mucin 4 consiste em Mucina 4 $\alpha$ , uma subunidade grande do tipo amino-mucina e Mucina 4 $\beta$ , uma subunidade transmembrana contendo três domínios do tipo EGF. O gene Mucin 4 é o gene predominante da mucina expresso no urotélio normal e também é expresso em vários tecidos normais, como traqueia, pulmão e testículos. MUC4 expressão anormal é encontrada em vários tumores epiteliais humanos, como mama, cólon, pulmão e colo do útero. A sua falta de expressão no pâncreas normal e a sobreexpressão concomitante no adenocarcinoma pancreático tornam este anticorpo uma ferramenta útil para a discriminação entre o adenocarcinoma e a pancreatite crônica. Em contraste, nos adenocarcinomas do estômago, observa-se diminuição da expressão de MUC4 em comparação com a mucosa normal. No colangiocarcinoma intra-hepático, a expressão de MUC4 tem um significado diferente, uma vez que a ausência de expressão desta molécula pelo pequeno tamanho do tumor e excisão cirúrgica completa são indicadores prognósticos favoráveis independentes. A expressão de MUC4 é também característica do fibrossarcoma epitelióide esclerosante e é também frequentemente observada no componente glandular dos sarcomas sinoviais. A coloração focal pode ser detectada em casos isolados de tumores fibromixóides ossificantes, tumores estromais gastrointestinais epitelioides ou carcinomas mioepiteliais.

### 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.

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](http://www.grupoerviegas.com.br).

#### **Referências Bibliográficas**

- Tamura Y, Higashi M, Kitamoto S, Yokoyama S, Osako M, Horinouchi M, Shimizu T, Tabata M, Batra SK, Goto M, Yonezawa S. MUC4 and MUC1 expression in adenocarcinoma of the stomach correlates with vessel invasion and lymph node metastasis: an immunohistochemical study of early gastric cancer. *PLoS One*. 2012;7(11):e49251.
- Doyle LA, Wang WL, Dal Cin P, Lopez-Terrada D, Mertens F, Lazar AJ, Fletcher CD, Hornick JL. MUC4 is a sensitive and extremely useful marker for sclerosing epithelioid fibrosarcoma: association with FUS gene rearrangement. *Am J Surg Pathol*. 2012 Oct;36(10):1444-51.
- Rachagani S, Macha MA, Ponnusamy MP, Haridas D, Kaur S, Jain M, Batra SK. MUC4 potentiates invasion and metastasis of pancreatic cancer cells through stabilization of fibroblast growth factor receptor 1. *Carcinogenesis*. 2012 Oct;33(10):1953-64.
- Gross MS, Guyonnet-Duperat V, Porchet N, Bernheim A, Aubert JP, Nguyen VC. Mucin 4 (MUC4) gene: regional assignment (3q29) and RFLP analysis. *Ann Genet*. 1992;35(1):21-6.