

## PGP 9.5 – Anticorpo Policlonal anti-humano

*Rabbit anti-human PGP 9.5 Antibody (Polyclonal)*

Código	EP-12-52523	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	Policlonal
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Proteína recombinante correspondente ao comprimento total da proteína humana PGP 9.5.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Pâncreas
• Marcação	:	Citoplasma e Núcleo celular

### Aplicações conhecidas

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

### Especificações:

Este anticorpo reconhece uma molécula com uma massa molecular de 27 kDa conhecida como "Protein Gene Product 9.5" ou PGP 9.5 e codificada pelo gene UCHL1 (ubiquitina carboxi-terminal hidrolase L1 isoenzima), localizada na região cromossômica 4p13. Esta proteína catalisa a hidrólise de ésteres e amidas C-terminais da ubiquitina, desempenhando um papel importante na degradação de proteínas. A superexpressão do gene UCHL1 ocorre em várias neoplasias, incluindo leucemias, carcinomas e vários tumores de origem mesenquimal. Em tecidos normais, o PGP 9.5, que mostra principalmente um padrão de coloração citoplasmático, está presente nos neurônios e fibras nervosas dos sistemas nervoso central e periférico, bem como em numerosas células neuroendócrinas, exceto as do trato digestivo, das quais apenas o pâncreas ilhotas de Langerhans mostram coloração positiva consistente. Outros tecidos normais que geralmente são corados são segmentos de túbulos renais, espermatogônias e células de Leydig, músculo liso e centros germinais. Embora este anticorpo seja um marcador sensível de células nervosas e bainhas nervosas, não é completamente específico e, além de imunocoloração de astrocitomas, schwannomas, neurofibromas (100%), perineuriomas (100%), tumores malignos da bainha dos nervos periféricos (70%) e neurotecomaomas, outras neoplasias são moderada ou fortemente positivas; estes incluem tumores carcinóides, carcinoma pulmonar de células pequenas, mesotelioma, tumores de células granulares e diferentes tumores mesenquimais: tumores mio / fibroblásticos (70% de histiocitomas fibrosos malignos), sarcomas fibromixoides de baixo grau (90%), fibromatose (100%), fibroblastoma desmoplásico. Sua positividade nos fibroblastos do estroma desmoplásico do carcinoma colorretal em estágio avançado tem valor prognóstico, sugerindo menor sobrevida e recidivas mais frequentes. Tumores vasculares (angiossarcomas, hemangioendoteliomas, hemangiomas), bem como lipossarcomas pleomórficos, dermatofibrossarcoma protuberans, rabdomyosarcomas, sarcoma sinovial e alguns melanomas, também exibem coloração com esse anticorpo.

### 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. Estes incluem, mas não estão limitados a: fixação, método de recuperação com calor, tempos de incubação, espessura do corte do tecido e kit de detecção usado. Devido a sensibilidade superior destes reagentes únicos, a recomendação dos tempos de incubação e títulos enumerados não são aplicáveis para outros sistemas

de detecção, pois os resultados podem variar. As recomendações da bula e protocolos estão baseados com o uso exclusivo dos produtos EasyPath. É de responsabilidade do pesquisador determinar as condições ideais.

**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 panela elétrica (MuscaePlus/EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath), tampar a panela e deixar 10 minutos em 110°C, conforme pré-programado, esfriar em temperatura ambiente por 20 minutos no próprio tampão.
- 3 - Bloqueador de Peroxidase (Recomendado EP-11-20521/2/3 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 4 - Bloqueador de Proteína (Recomendado EP-12-20531/2/3 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 5 - Anticorpo primário por 30 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 6 - Sistema de Detecção (Recomendado EP-12-20501/2/3/4/5/6 - EasyLink One EasyPath) por 30 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 7 - DAB (Recomendado EP-12-20541/2/3/5 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath), depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 8 - Hematoxilina (Recomendado EP-11-20571/3 - EasyPath) por 1 minuto e lavar em água corrente por 1 minuto.
- 9 - Bateria de álcool e xilol
- 10 - 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.

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 desparafinação podem interferir na metodologia e tempos de incubações.

#### **Garantia Grupo Erviegas**

O Grupo Erviegas garante o funcionamento do produto conforme especificado nesta literatura. Para maiores 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**

1. Doran JF, Jackson P, Kynoch PA, Thompson RJ. Isolation of PGP 9.5, a new human neurone-specific protein detected by high-resolution two-dimensional electrophoresis. *J Neurochem*; 40: 1542. 1983.
2. Rode J, Dhillon AP, Doran JF, Jackson P, Thompson RJ. PG P9.5, a new marker for human neuroendocrine tumours. *Histopathology*; 9: 147-158. 1985
3. Edwards YH, Fox MF, Povey S, Hinks LJ, Thompson RJ, Day IN. The gene for human neurone specific ubiquitin C -terminal hydrolase (UCHL1, PGP9.5) maps to chromosome 4p14. *Ann Hum Genet*. 1991;55:273-278
4. Piccinini M, Merighi A, Bruno R, Cascio P, Curto M, Mioletti S, et al. Affinity purification and characterization of protein gene product 9.5 (PGP9.5) from retina. *Biochem J*; 318: 711-716. 1996.
5. Wick MR. Immunohistology of neuroendocrine and neuroectodermal tumors. *Semin Diagn Pathol*;17:194-203. 2000.
6. Tezel E, Hibi K, Nagasaka T, Nakao A. PGP9.5 as a prognostic factor in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*; 6(12): 4764-4767. 2000.
7. Mahalingam M, LoPiccolo D, Byers HR. Expression of PGP 9.5 in granular cell nerve sheath tumors: an immunohistochemical study of six cases. *J Cutan Pathol*; 28: 282-286. 2001
8. Campbell LK, Thomas JR, Lamps LW, Smoller BR, Folpe AL. Protein gene product 9.5 (PGP 9.5) is not a specific marker of neural and nerve sheath tumors: an immunohistochemical study of 95 mesenchymal neoplasms. *Mod Pathol*;16(10): 963-969. 2003.
9. Fetsch JF, Laskin WB, Hallman JR, Lupton GP, Miettinen M. Neurothekeoma: an analysis of 178 tumors with detailed immunohistochemical data and long-term patient follow-up information. *Am J Surg Pathol*; 31(7):1103-1114. 2007
10. Akishima-Fukasawa Y, Ino Y, Nakanishi Y, Miura A, Moriya Y, Kondo T, Kanai Y, Hirohashi S. Significance of PGP9.5 expression in cancer-associated fibroblasts for prognosis of colorectal carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 2010;134:71-79
11. Vered M, Fridman E, Carpenter WM, Buchner A. Classic neurothekeoma (nerve sheath myxoma) and cellular neurothekeoma of the oral mucosa: immunohistochemical profiles. *J Oral Pathol Med*. 2011;40:174-180