

PSMA – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Antígeno de Membrana Específico da Próstata

Rabbit anti-human PSMA (prostate specific membrane antigen) Monoclonal - Antibody (Clone EP192)

| Código | EP-12-52683 | 1ml |
|--------------------------------|-------------|---|
| • Diluição recomendada | : | 1:50 |
| • Validade e lote do produto | : | Ver frasco |
| • Temperatura de armazenamento | : | 2 à 8°C (não congelar) |
| • Clone | : | EP192 ³ |
| • Isotipo Ig | : | Coelho IgG |
| • Imunógeno | : | Peptídeo sintético correspondente ao PSMA humano. |
| • Reatividade | : | RUO – (Humanos – não testados em outras espécies) |
| • Controle positivo | : | Seção de tecido da próstata. |
| • 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 glutamato Carboxipeptidase 2 (GCP2) ou folato hidrolase 1 (FOLH1), também conhecido como antígeno de membrana específico da próstata (PSM ou PSMA), é uma proteína transmembrana homodimérica do tipo II de 750 aminoácidos de aproximadamente 100 kDa de massa molecular que é codificada pela Gene FOLH1, localizado na região cromossômica 11p11.12. A proteína FOLH1 é funcionalmente caracterizada por intensa atividade de folase-hidrolase e dipeptidase em resíduos N-acetilados de peptídeos tri-alfa-glutamato, regulando a absorção de folato no intestino e a neurotransmissão excitatória associada à hidrólise de o neuropeptídeo N-acetilaspargilglutamato no SNC (sistema nervoso central). Em circunstâncias patológicas no SNC, um excesso de função da FOLH1 causa um efeito excitotóxico devido à geração de altos níveis de glutamato que, como consequência, leva à morte de células motoras na esclerose lateral amiotrófica em suas variantes esporádica e familiar. De fato, os inibidores da FOLH1 produzem efeitos protetores neste tipo de condições quando os níveis de glutamato diminuem. Em tecidos normais, a proteína está presente em grandes quantidades no epitélio da próstata, onde tem uma função desconhecida. No entanto, sabe-se que nos tumores que derivam dessa glândula, o FOLH1 está envolvido na progressão do tumor. A proteína também pode ser encontrada no intestino delgado (borda em escova), epitélio urinário, rim, testículo, ovário, tubas uterinas, mama, glândula supra-renal, fígado, esôfago, estômago, cólon e cérebro (principalmente tronco encefálico e corpo estriado). Nos tecidos neoplásicos, o FOLH1 pode estar presente em tumores do intestino delgado, cérebro, rim, fígado, baço, traquéia, medula espinhal e endotélio capilar. Na próstata, a molécula do PSMA (FOLH1) pode ser encontrada tanto nas lesões benignas quanto nas malignas, embora nas neoplasias possa ser observado um aumento na intensidade e no número de células coradas em relação direta com a agressividade do carcinoma. Portanto, também está indiretamente correlacionado com a expressão de receptores androgênicos. Em comparação com o antígeno específico da próstata (PSA), a determinação de PSMA em tumores é um procedimento mais sensível, mas menos específico. Por isso, o anticorpo contra PSMA é utilizado no diagnóstico e prognóstico de tumores da próstata e como um possível marcador para várias doenças cerebrais neurodegenerativas tais como esquizofrenia e doenças de Alzheimer e Huntington. Do mesmo modo, o anticorpo monoclonal anti-FOLH1 7E11 (ProstaScint®) é utilizado para a imagiologia de diagnóstico de tumores primários e metastáticos da próstata.

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 seção 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 NxGen (Biocare) 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. Devlin AM, Ling EH, Peerson JM, Fernando S, Clarke R, Smith AD, Halsted CH. Glutamate carboxypeptidase II: a polymorphism associated with lower levels of serum folate and hyperhomocysteinemia. *Hum Mol Genet.* 2000 Nov 22;9(19):2837-44.
2. O'Keefe DS, Bacich DJ, Heston WD. Comparative analysis of prostate-specific membrane antigen (PSMA) versus a prostate-specific membrane antigen-like gene. *Prostate.* 2004 Feb 1;58(2):200-10.
3. Chang SS. Overview of prostate-specific membrane antigen. *Rev Urol.* 2004;6 Suppl 10:S13-8.
4. Kinoshita Y, Kuratsukuri K, Landas S, Imaida K, Rovito PM Jr, Wang CY, Haas GP. Expression of prostate-specific membrane antigen in normal and malignant human tissues. *World J Surg.* 2006 Apr;30(4):628-36.
5. Ulbright TM, Tickoo SK, Berney DM, Srigley JR; Members of the ISUP Immunohistochemistry in Diagnostic Urologic Pathology Group. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in testicular tumors: report from the International Society of Urological Pathology consensus conference. *Am J Surg Pathol.* 2014 Aug;38(8):e50-9.