

## SDHB - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (EP288)

Rabbit anti-human SDHB Monoclonal Antibody (Clone EP288)

Código	EP-12-52803	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP288 <sup>3</sup>
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Proteína recombinante correspondente à proteína SDHB humana (subunidade B do sulfato ferroso do complexo succinato desidrogenase).
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Tecidos normais para controle positivo de coloração, tecidos de mutação SDHB para demonstrar a falta de coloração
• Marcação	:	Coloração granular do citoplasma celular para tecidos SDHB não mutáveis, falta de coloração por mutação uma vez.

### Aplicações conhecidas

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

### Especificações:

A succinato desidrogenase (SDH) é o complexo II da mitocôndria, vital para o transporte de elétrons mitocondriais, bem como a função do ciclo de Krebs. O SDH catalisa a oxidação do succinato em fumarato e transfere elétrons para a ubiquinona por meio da coordenação de suas quatro subunidades (SDHA, SDHB, SDHC e SDHD). O complexo SDH funciona como um supressor de tumor. A perda de quaisquer proteínas subunitárias leva à desestabilização do complexo e à formação de tumores. A subunidade B da SDH (SDHB) é expressa de forma ubíqua em tecidos normais. Mutações germinais nos genes SDHB, SDHC ou SDHD predisõem ao desenvolvimento de feocromocitoma, paraganglioma e tumor estromal gastrointestinal (GIST). A imunohistoquímica SDHB é útil na identificação de feocromocitomas, paragangliomas ou GIST com mutação SDHB.

### 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 IHC 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 500ml 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

- 1: Udager AM, Magers MJ, Goerke DM, Vinco ML, Siddiqui J, Cao X, Lucas DR, Myers JL, Chinnaiyan AM, McHugh JB, Giordano TJ, Else T, Mehra R. The utility of SDHB and FH immunohistochemistry in patients evaluated for hereditary paraganglioma-pheochromocytoma syndromes. *Hum Pathol.* 2018 Jan;71:47-54
- 2: Bernardo-Castiñeira C, Valdés N, Sierra MI, Sáenz-de-Santa-María I, Bayón GF, Perez RF, Fernández AF, Fraga MF, Astudillo A, Menéndez R, Fernández B, Del Olmo M, Suarez C, Chiara VITRO S.A. SDHC Promoter Methylation, a Novel Pathogenic Mechanism in Parasympathetic Paragangliomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 Jan 1;103(1):295-305.
- 3: Williamson SR, Hornick JL, Eble JN, Gupta NS, Rogers CG, True L, Grignon DJ, Cheng L. Renal Cell Carcinoma with Angioleiomyoma-Like Stroma and Clear Cell Papillary Renal Cell Carcinoma: Exploring SDHB Protein Immunohistochemistry and the Relationship to Tuberous Sclerosis Complex. *Hum Pathol.* 2017 Nov 24. pii: S0046-8177(17)30432-X.
- 4: Punsoni M, Mangray S, Lombardo KA, Heath N, Stopa EG, Yakirevich E. Succinate Dehydrogenase B (SDHB) Immunohistochemistry for the Evaluation of Muscle Biopsies. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2017 Oct;25(9):645-650.
- 5: Belinsky MG, Cai KQ, Zhou Y, Luo B, Pei J, Rink L, von Mehren M. Succinate dehydrogenase deficiency in a PDGFRA mutated GIST. *BMC Cancer.* 2017 Aug 2;17(1):512.
- 6: Carter CS, Skala SL, Chinnaiyan AM, McHugh JB, Siddiqui J, Cao X, Dhanasekaran SM, Fullen DR, Lagstein A, Chan MP, Mehra R. Immunohistochemical Characterization of Fumarate Hydratase (FH) and Succinate Dehydrogenase (SDH) in Cutaneous Leiomyomas for Detection of Familial Cancer Syndromes. *Am J Surg Pathol.* 2017 Jun;41(6):801-809.
- 7: Santi R, Rapizzi E, Canu L, Ercolino T, Baroni G, Fucci R, Costa G, Mannelli M, Nesi G. Potential Pitfalls of SDH Immunohistochemical Detection in Paragangliomas and Pheochromocytomas Harboring Germline SDHx Gene Mutation. *Anticancer Res.* 2017 Feb;37(2):805-812.
- 8: Guo Z, Lloyd RV. Use of monoclonal antibodies to detect specific mutations in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. *Hum Pathol.* 2016 Jul;53:168-77.
- 9: Imamura H, Muroya K, Tanaka E, Konomoto T, Moritake H, Sato T, Kimura N, Takekoshi K, Nuno H. Sporadic paraganglioma caused by de novo SDHB mutations in a 6-year-old girl. *Eur J Pediatr.* 2016 Jan;175(1):137-41.
- 10: Giubellino A, Lara K, Martucci V, Huynh T, Agarwal P, Pacak K, Merino MJ. Urinary Bladder Paragangliomas: How Immunohistochemistry Can Assist to Identify Patients With SDHB Germline and Somatic Mutations. *Am J Surg Pathol.* 2015 Nov;39(11):1488-92.

