

TLE-1 - Anticorpo Monoclonal Anti-Humano - (Clone 1F5)

Mouse anti-human TLE-1 Monoclonal Antibody (Clone 1F5)

Código	EP-12-53083	1ml
• Diluição recomendada	:	1:20
• Validade e lote do produto	:	ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	1F5
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG2a
• Imunógeno	:	-
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Sarcoma sinovial
• Marcação	:	Nuclear

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 potenciador semelhante à transducina do gene da divisão 1 (TLE1) é um membro da família dos genes da ELT e está envolvido no controlo da hematopoiese, diferenciação neuronal e epitelial terminal. Por imuno-histoquímica em tecidos embebidos em parafina e fixados em formol, a expressão de TLE1 (coloração nuclear) foi encontrada em 249 de 259 casos de sarcoma sinovial, e foi rara a ausência nos outros 73 tumores de tecidos moles examinados (coloração positiva foi encontrada apenas em 1 de 43 tumores malignos da bainha dos nervos periféricos e 1 sarcoma pleomórfico). Anti-TLE1 foi mais sensível e específico para o sarcoma sinovial do que outros marcadores imunohistoquímicos atualmente disponíveis, incluindo BCL2, antígeno de membrana epitelial e citoqueratinas, e teve um valor preditivo positivo de 92% e um valor preditivo negativo de 100% nesse cenário clínico. A superexpressão de TLE1 está significativamente associada à translocação t (X; 18).

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 (Muscae Plus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 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 Muscae Plus (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. Stifani, S., et al. Human homologs of a Drosophila Enhancer of split gene product define a novel family of nuclear proteins. *Nat. Genet.* 2:119-127. 1992.
2. Paroush, Z., et al. Groucho is required for Drosophila neurogenesis, segmentation, and sex determination and interacts directly with Hairyrelated bHLH Proteins. *Cell* 79: 805-815. 1994.
3. Liu, Y., et al. Epithelial expression and chromosomal location of human TLE genes: implications for Notch signaling and neoplasia. *Genomics* 31: 58-64. 1996.
4. Palaparti, A., et al. The groucho/transducin-like enhancer of split transcriptional repressors interact with the genetically defined aminoterminal silencing domain of Histone H3. *J. Biol. Chem.* 272: 26604-26610. 1997.
5. Levanon, D., et al.. Transcriptional repression by AML1 and LEF-1 is mediated by the TLE/groucho corepressors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 11590-11595. 1998.
6. Matsuyama A, Hisaoka M, Iwasaki M, Iwashita M, Hisanaga S, Hashimoto H. TLE1 expression in malignant mesothelioma. *Virchows Arch*; 457(5):577-83. 2010.
7. Knösel T, Heretsch S, Altendorf-Hofmann A, Richter P, Katenkamp K, Katenkamp D, Berndt A, Petersen I. TLE1 is a robust diagnostic biomarker for synovial sarcomas and correlates with t(X;18): analysis of 319 cases. *Eur J Cancer*; 46(6): 1170-6. 2010.
8. Chuang HC, Hsu SC, Huang CG, Hsueh S, Ng KF, Chen TC. Reappraisal of TLE-1 immunohistochemical staining and molecular detection of SS18-SSX fusion transcripts for synovial sarcoma. *Pathol Int.* 2013 Dec;63(12):573-80