

Anticorpo monoclonal anti-humano ERG - (Clone 9FY)

Mouse anti-human ERG Monoclonal Antibody (Clone 9FY)

Código	EP-12-53123	1ml
• Diluição recomendada	:	1:20
• Validade e lote do produto	:	ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	9FY
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1
• Imunógeno	:	-
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Células endoteliais
• 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 TMPRSS2: ERG é o rearranjo gênico mais prevalente nos cânceres de próstata, levando à superexpressão de uma proteína ERG truncada em um subconjunto de cânceres de próstata. A expressão de ERG também é relatada em neoplasia intraepitelial prostática de alto grau (PIN). Publicações sugerem que a prevalência do rearranjo TMPRSS2: ERG em casos de câncer de próstata varia de ~ 25% a 70% 1,3. O ERG é expresso em muitos tecidos, incluindo tumores vasculares.

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 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.

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. Miettinen M, Wang ZF, Paetau A, Tan SH, Dobi A, Srivastava S, Sesterhenn I. ERG transcription factor as an immunohistochemical marker for vascular endothelial tumors and prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2011 Mar;35(3):432-41
2. Yaskiv O, Rubin BP, He H, Falzarano S, Magi-Galluzzi C, Zhou M. ERG protein expression in human tumors detected with a rabbit monoclonal antibody. *Am J Clin Pathol*. 2012 Dec;138(6):803-10
3. Yaskiv O, Zhang X, Simmerman K, Daly T, He H, Falzarano S, Chen L, Magi-Galluzzi C, Zhou M. The utility of ERG/P63 double immunohistochemical staining in the diagnosis of limited cancer in prostate needle biopsies. *Am J Surg Pathol*. 2011 Jul;35(7):1062-8
4. Falzarano SM, Zhou M, Carver P, Tsuzuki T, Simmerman K, He H, Magi-Galluzzi C. ERG gene rearrangement status in prostate cancer detected by immunohistochemistry. *Virchows Arch*. 2011 Oct;459(4):441-7
5. Chaux A, Albadine R, Toubaji A, Hicks J, Meeker A, Platz EA, De Marzo AM, Netto GJ. Immunohistochemistry for ERG expression as a surrogate for TMPRSS2-ERG fusion detection in prostatic adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2011 Jul;35(7):1014-20
6. Tomlins SA, Palanisamy N, Siddiqui J, Chinnaiyan AM, Kunju LP. Antibody-based detection of ERG rearrangements in prostate core biopsies, including diagnostically challenging cases: ERG staining in prostate core biopsy. *Arch Pathol Lab Med*. 2012 Aug;136(8):935-46
7. Shah RB, Tadros Y, Brummell B, Zhou M. The diagnostic use of ERG in resolving an "atypical glands suspicious for cancer" diagnosis in prostate biopsies beyond that provided by basal cell and α -methylacyl-CoA-racemase markers. *Hum Pathol*. 2013 May;44(5):786-94
8. Williamson SR, Zhang S, Yao JL, Huang J, Lopez-Beltran A, Shen S, Osunkoya AO, MacLennan GT, Montironi R, Cheng L. ERG-TMPRSS2 rearrangement is shared by concurrent prostatic adenocarcinoma and prostatic small cell carcinoma and absent in small cell carcinoma of the urinary bladder: evidence supporting monoclonal origin. *Mod Pathol*. 2011 Aug;24(8):1120-7
9. Wang WL, Patel NR, Caragea M, Hogendoorn PC, López-Terrada D, Hornick JL, Lazar AJ. Expression of ERG, an Ets family transcription factor, identifies ERG-rearranged Ewing sarcoma. *Mod Pathol*. 2012 Oct;25(10):1378-83
10. He H, Osunkoya AO, Carver P, Falzarano S, Klein E, Magi-Galluzzi C, Zhou M. Expression of ERG protein, a prostate cancer specific marker, in high grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN): lack of utility to stratify cancer risks associated with HGPIN. *BJU Int*. 2012 Dec;110(11 Pt B):E751-5