

## ERG – Anticorpo Monoclonal de Camundongo – Clone (9FY)

<b>Código</b>	<b>EP-12-54541</b>	<b>0.1ml</b>	<b>1:100</b>	<b>Concentrado</b>
	<b>EP-12-54546</b>	<b>6 ml</b>	<b>Diluído</b>	<b>Pronto para uso</b>

- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : 9FY
- Isotipo Ig : IgG1
- Imunógeno : N-terminal ERG
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Câncer de próstata ERG positivo e / ou glândulas PIN
- Marcação : Nuclear

### Aplicações conhecidas

Em Imuno-histoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina.

### Especificações:

No câncer de próstata humano, o oncogene ERG é frequentemente super expresso devido a translocações cromossômicas envolvendo ERG e sequências regulatórias do TMPRSS2 ou outros genes responsivos a andrógenos. Em particular, descobriu-se recentemente que o gene de fusão TMPRSS2: ERG é o rearranjo gênico mais frequente em cânceres de próstata, ocorrendo em 45-65% dos pacientes norte-americanos. O anticorpo monoclonal de camundongo anti-ERG, clone 9FY, mostra uma especificidade sem precedentes de 99,9% para a detecção de adenocarcinoma da próstata. Relatórios independentes demonstram correlação de 97-100% entre a expressão da proteína ERG e a presença de rearranjo TMPRSS2: ERG e uma concordância notável (96,5%) de neoplasia intraepitelial prostática positiva para ERG (PIN) e carcinoma positivo para ERG em espécimes de prostatectomia. Portanto, como marca registrada da translocação cromossômica TMPRSS2: ERG, a detecção da expressão de ERG por 9FY oferece um marcador raro, mas definitivo de adenocarcinoma de origem prostática e oportunidades únicas para indicar ativações oncogênicas em PIN, para estratificar pacientes com câncer de próstata para oncogene ERG e monitorar a eficácia do tratamento. Em relação à estratificação dos pacientes, as avaliações comparativas do estado de expressão da proteína ERG com as fusões gênicas 9FY e TMPRSS2-ERG em cânceres de próstata virgens de hormônio e resistentes à castração mostraram-se promissoras para definir um subgrupo de casos com via de sinalização de andrógeno dispensada. Dada a facilidade de realização de IHC vs. FISH, a expressão da proteína ERG em tecidos fixados em formalina e embebidos em parafina (FFPE) pode ser uma ferramenta extremamente útil para a identificação de rotina do rearranjo do gene ERG e diagnóstico de adenocarcinoma prostático. A utilidade adicional do anticorpo monoclonal de camundongo anti-ERG, 9FY, foi mostrada na detecção de malignidades endoteliais, incluindo sarcoma de Kaposi. Os relatórios também demonstraram o desempenho superior do 9FY em ensaios de imunoprecipitação da cromatina (ChIP), imunofluorescência (IF) e immunoblot.

Nota: Clone 9FY [EUA Patente 8.765.916 e patentes pendentes] foi desenvolvido pelo Center for Prostate Disease Research com a Fundação Henry M. Jackson para o Avanço da Medicina Militar, Rockville, Maryland, EUA.

### 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 entrarem 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 600 ml de água destilada na câmara pressurizada (Muscae Plus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath) ou Diva (Biocare), 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.

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 mais informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site [www.grupoerviegas.com.br](http://www.grupoerviegas.com.br).

#### **Referência Bibliografia**

1. Petrovics G, et al. Frequent overexpression of ETS related gene-1 (ERG1) in prostate cancer transcriptome. *Oncogene*. 2005 May 26;24(23):3847-52.
2. Rosen P, et al. Clinical potential of the ERG oncoprotein in prostate cancer. *Nat Rev Urol*. 2012 Feb 14;9(3):131-7.
3. Furusato B, et al. ERG oncoprotein expression in prostate cancer: clonal progression of ERG positive tumor cells and potential for ERG based stratification. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2010 Sep;13(3):228-37.
4. Braun M, et al. ERG protein expression and genomic rearrangement status in primary and metastatic prostate cancer - a comparative study of two monoclonal antibodies. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2012 Jun;15(2):165-9.
5. Miettinen M, et al. ERG transcription factor as an immunohistochemical marker for vascular endothelial tumors and prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2011 Mar;35 (3):432-41.
6. Mohamed AA, et al. Ets family protein, erg expression in developing and adult mouse tissues by a highly specific monoclonal antibody. *J Cancer*. 2010 Oct 25;1:197-208.
7. Mohamed AA, et al. ERG oncogene modulates prostaglandin signaling in prostate cancer cells. *Cancer Biol Ther*. 2011 Feb 15;11(4):410-7.
8. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition CLSI document M29-A4 Wayne, PA 2014.