

FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human
Beta-Catenin
Clone β -Catenin-1
Ready-to-Use
(Dako Omnis)

Codice GA702

Uso previsto	<p>Per uso diagnostico in vitro.</p> <p>FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Beta-Catenin, Clone β-Catenin-1, Ready-to-Use (Dako Omnis), è destinato all'utilizzo in ambito immunostochimico in combinazione con lo strumento Dako Omnis. Questo anticorpo marca le cellule che esprimono la beta-catenina in tessuti fissati in formalina, inclusi in paraffina. I risultati forniscono un ausilio nella classificazione dei tumori desmoidi (1) e del cancro coloretale (2). Inoltre, gli anticorpi contro la beta-catenina possono risultare utili nella classificazione dell'adenoma del colon (3). L'identificazione differenziale è supportata dai risultati ottenuti con un gruppo di anticorpi. L'interpretazione clinica della colorazione o dell'assenza di colorazione deve essere integrata con studi morfologici eseguiti con i controlli opportuni, deve tenere conto dell'anamnesi del paziente e deve basarsi su ulteriori esami diagnostici eseguiti da un patologo qualificato. Questo anticorpo deve essere utilizzato una volta formulata la diagnosi primaria del tumore mediante esame istopatologico convenzionale eseguito utilizzando tecniche di colorazione istochimica non immunologica.</p>
Cenni introduttivi	<p>Le catenine sono proteine citoplasmatiche strutturalmente correlate, classificate in alfa (α), beta (β) e gamma (γ) in base alla loro mobilità elettroforetica (4, 5). Il gene della β-catenina è localizzato sul cromosoma 3p21 e codifica per una proteina di 88 kDa (4, 5). Questa proteina citoplasmatica è multifunzionale e svolge un ruolo fondamentale nell'ancoraggio mediato da caderine e nell'organizzazione del citoscheletro (4). La beta-catenina è coinvolta anche nella regolazione dell'espressione genica con un ruolo di mediatore nella via di trasduzione del segnale di Wnt. I livelli cellulari di β-catenina sono strettamente regolati da un complesso multiproteico costituito dalla serina/treonina chinasi GSK3β, il prodotto del gene oncosoppressore APC, e dall'axina, che favorisce la fosforilazione e la successiva degradazione della proteina β-catenina. Un'alterata regolazione della degradazione della β-catenina porta all'accumulo della proteina nel citoplasma e successivamente alla traslocazione di questa nel nucleo. La β-catenina nucleare forma complessi con proteine leganti il DNA, quali TCF e LEF, attivando la trascrizione genica (6).</p> <p>Fare riferimento al manuale <i>General Instructions for Immunohistochemical Staining</i> (Istruzioni generali per la colorazione immunostochimica) di Dako o alle istruzioni relative alle procedure IHC del sistema di rilevazione.</p>
Reagente fornito	<p>Anticorpo murino monoclonale pronto per l'uso fornito in forma liquida in un tampone contenente la proteina stabilizzante e sodio azide 0,015 mol/L.</p> <p><u>Clone:</u> β-Catenin-1. <u>Isotipo:</u> IgG1, kappa.</p>
Immunogeno	<p>Proteina ricombinante di fusione β-catenina C-terminale-GST (7).</p>
Specificità	<p>In test di Western blot su cellule epiteliali umane A431, l'anticorpo marca una banda corrispondente alla proteina β-catenina umana. Non è stata osservata reattività crociata con le catenine α e γ (7).</p>
Precauzioni	<ol style="list-style-type: none">1. Per uso diagnostico in vitro.2. Per uso professionale.3. Questo prodotto contiene sodio azide (NaN₃), una sostanza chimica altamente tossica in forma pura. Sebbene alle concentrazioni del prodotto non sia classificata come pericolosa, la sodio azide può reagire con il rame e il piombo delle tubature formando azidi metalliche fortemente esplosive. Durante lo smaltimento del prodotto, far scorrere abbondante acqua nelle tubature per impedire la formazione di azidi metalliche.4. Adottare le normali procedure previste per il trattamento dei prodotti di origine biologica.5. Indossare dispositivi di protezione individuale appropriati per evitare il contatto con gli occhi e la cute.6. La soluzione non utilizzata deve essere smaltita in conformità alle normative locali e nazionali vigenti in materia.
Conservazione	<p>Conservare a 2-8 °C con il coperchio ben chiuso. Non utilizzare dopo la data di scadenza stampata sul flacone. La stabilità sullo strumento è di 80 ore. Il software Dako Omnis tiene traccia del tempo del prodotto sullo strumento. Nel caso in cui i reagenti vengano conservati diversamente da quanto specificato, le condizioni dovranno essere verificate dall'utente. Non è possibile indicare segni evidenti di instabilità del prodotto. Pertanto, è necessario analizzare gli opportuni controlli positivi e negativi contemporaneamente ai campioni dei pazienti. Se si osserva una colorazione inattesa non imputabile a variazioni delle procedure di laboratorio e si sospetta un problema associato all'anticorpo, contattare l'Assistenza tecnica Dako.</p>

Panoramica del protocollo di colorazione*

Fase	Reagente	Protocollo
Deparaffinazione	Clarify (codice GC810)	Predefinito
Pretrattamento	EnVision FLEX, High pH (codice GV804)	Smascheramento antigenico termoindotto 30 min
Anticorpo primario	Ready-to-Use (codice GA702)	Incubazione 20 min
Reagente di controllo negativo	FLEX Negative Control, Mouse (codice GA750)	Incubazione 20 min
Visualizzazione	EnVision FLEX (codice GV800)	Blocco: 3 min; polimero: 20 min; cromogeno: 5 min
Colorazione di contrasto	Hematoxylin (codice GC808)	Incubazione 3 min
Montaggio	È richiesto il montaggio permanente e non acquoso	Disidratazione, chiarificazione e montaggio devono essere eseguiti dopo lo scaricamento
Controllo di qualità	Tessuto	Pattern di colorazione
Tessuto di controllo	Colon, fegato	Pattern di colorazione membranoso

*L'utente deve sempre leggere i foglietti informativi relativi ai reagenti utilizzati e consultare i Manuali utente di Dako Omnis per ulteriori informazioni.

Preparazione dei campioni

Sezioni in paraffina: l'anticorpo può essere utilizzato per marcare sezioni di tessuto fissate in formalina, incluse in paraffina. I campioni tissutali devono essere tagliati in sezioni di 4 µm. Per una maggiore aderenza delle sezioni di tessuto ai vetrini, si consiglia di utilizzare i vetrini FLEX IHC Microscope Slides (codice K8020).

Procedura di colorazione

Deparaffinazione, smascheramento antigenico, colorazione immunostochimica e colorazione di contrasto vengono eseguiti sullo strumento Dako Omnis. Il ciclo di colorazione e i tempi di incubazione sono preimpostati nel software Dako Omnis. Se il protocollo non è disponibile nel sistema Dako Omnis, può essere scaricato da *Dako Omnis Protocol Update (Aggiornamento protocolli Dako Omnis) sul sito www.dako.com*. Per istruzioni dettagliate sul caricamento di vetrini e reagenti, consultare "Dako Omnis Manuale utente di base".

Dako Omnis evita che le sezioni di tessuto si seccino durante il pretrattamento o durante la successiva procedura di colorazione immunostochimica.

Pretrattamento: la deparaffinazione delle sezioni di tessuto FFPE viene eseguita utilizzando Clarify, codice GC810. È consigliato il pretrattamento dei tessuti con lo smascheramento antigenico termoindotto (HIER) utilizzando la soluzione diluita EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Dako Omnis), codice GV804.

Visualizzazione: il sistema di visualizzazione consigliato è EnVision FLEX High pH (Dako Omnis), codice GV800.

Colorante di contrasto: per la colorazione di contrasto, si consiglia di utilizzare Hematoxylin (Dako Omnis), codice GC808.

Montaggio: una volta completata la procedura di colorazione sullo strumento Dako Omnis, le sezioni devono essere disidratate, diafanizzate e montate utilizzando un metodo di montaggio permanente.

Controllo di qualità

I tessuti di controllo positivo e negativo e reagenti di controllo negativo devono essere analizzati contemporaneamente utilizzando lo stesso protocollo dei campioni dei pazienti. I tessuti di controllo positivo devono includere colon e fegato e le cellule/strutture devono mostrare i pattern di reazione descritti per i tessuti in questione nella sezione "Caratteristiche di prestazione". Il reagente di controllo negativo consigliato è FLEX Negative Control, Mouse (Dako Omnis), codice GA750.

Interpretazione dei risultati della colorazione

Il pattern di colorazione cellulare è di tipo membranoso. Le cellule neoplastiche possono mostrare una colorazione nucleare e citoplasmatica diffusa.

Caratteristiche di prestazione

Tessuti normali: nel colon, le cellule epiteliali mostrano una reazione di colorazione da moderata a forte. Nel fegato, gli epatociti mostrano una reazione di colorazione da debole a moderata (8).

Tessuti anomali: l'anticorpo ha marcato 24/30 tumori desmoidi sporadici e 8/12 tumori desmoidi di pazienti con poliposi adenomatosa familiare (1). In uno studio di microarray tissutale sul cancro coloretale, si è osservata una reazione di colorazione nucleare in 657/1310 casi, citoplasmatica in 1068/1310 casi e membranosa in 1107/1310 casi (2). L'anticorpo ha marcato 2/2 adenomi di colon (8).

Bibliografia

1. Carlson JW, Fletcher CDM. Immunohistochemistry for β -catenin in the differential diagnosis of spindle cell lesions: analysis of a series and review of the literature. *Histopathol* 2007;51:509-14.
2. Lugli A, Zlobec I, Minoo P, Baker K, Tornillo L, Terracciano L, et al. Prognostic significance of the wnt signalling pathway molecules APC, β -catenin and E-cadherin in colorectal cancer-a tissue microarray-based analysis. *Histopathol*. 2007;50:453-64.
3. Iwamoto M, Ahnen DJ, Franklin WA, Maltzman TH. Expression of β -catenin and full-length APC protein in normal and neoplastic colonic tissue. *Carcinogenesis* 2000;21:1935-40.
4. Bracke ME, Van Roy FM, Mareel MM. The E-cadherin/catenin complex in invasion and metastasis. *Cur Top Microbiol Immunol* 1996; 213 (Pt 1):123-61.
5. Ozawa M, Baribault H, Kemler R. The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species. *EMBO J* 1989;8:1711-7.
6. Willert K, Nusse R. *Curr Opin Genet Dev* 1998;8:95-102.
7. Antibody Certification. Report on file, Dako.
8. Verification Test Results for: GA702 FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human Beta-Catenin Clone β -Catenin-1, Ready-to-Use (Dako Omnis). 2013. Report on file, Dako. D18293.

Spiegazione dei simboli

 REF	Numero di catalogo	 2°C - 8°C	Limiti di temperatura	 Produttore
 IVD	Dispositivo medico diagnostico in vitro	 LOT	Codice lotto	
	Consultare le istruzioni per l'uso		Data di scadenza	