

**Monoclonal Mouse  
Anti-Human  
Beta-Catenin  
Clone  $\beta$ -Catenin-1**

**Codice M3539**

**Uso previsto**

Per uso diagnostico In Vitro

L'anticorpo Dako Monoclonal Mouse Anti-Human Beta-Catenin, clone  $\beta$ -Catenin-1 (anti-beta-catenina,  $\beta$ -catenina-1), è destinato all'uso in laboratorio per l'identificazione qualitativa, tramite microscopia ottica, delle cellule positive alla  $\beta$ -catenina in tessuti normali e neoplastici, eseguendo allo scopo specifici esami immunocitochimici (IHC). L'interpretazione clinica dell'eventuale presenza o assenza di colorazione positiva deve essere integrata dalle analisi morfologiche e istologiche effettuate con i controlli previsti. L'interpretazione dei risultati deve essere effettuata da medici qualificati, nel contesto dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.

**Cenni introduttivi**

Le catenine sono strutturalmente legate alle proteine citoplasmatiche che sono state classificate come alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) e gamma ( $\gamma$ ) in funzione della loro mobilità elettroforetica.<sup>2,3</sup> Il gene della  $\beta$ -catenina è localizzato sul cromosoma 3p21 e codifica una proteina di 88 kD.<sup>2,3</sup> Questa proteina citoplasmatica ha svariate funzioni e svolge un ruolo chiave nell'ancoraggio mediato dalla caderina e nell'organizzazione del citoscheletro.<sup>2</sup> La beta-catenina è inoltre implicata nella regolazione dell'espressione del gene in quanto mediatrice del percorso dei segnali Wnt (Wnt signaling pathway). I livelli cellulari di  $\beta$ -catenina sono strettamente regolati da un complesso multiproteico costituito dalla serina/treonina chinasi GSK3 $\beta$ , il prodotto del gene oncosoppressore APC, e dall'axina, che favorisce la fosforilazione e la successiva degradazione della proteina  $\beta$ -catenina. Irregolarità nella degradazione della  $\beta$ -catenina portano all'accumulo della proteina nel citoplasma e successivamente alla traslocazione di questa nel nucleo. La  $\beta$ -catenina nucleare forma complessi con le proteine che legano il DNA, ad esempio TCF e LEF, attivando la trascrizione del gene.<sup>4</sup>

Fare riferimento alle *General Instructions for Immunohistochemical Staining (Istruzioni generali per la colorazione immunocitochimica)* della Dako o alle istruzioni sul sistema di rilevazione per le procedure IHC per: 1) Principio della procedura, 2) Materiali necessari ma non forniti, 3) Conservazione, 4) Preparazione dei campioni, 5) Procedura per la colorazione, 6) Controllo della qualità, 7) Risoluzione dei problemi, 8) Interpretazione dei risultati, 9) Limiti generali.

**Reagente fornito**

L'anticorpo monoclonale di topo viene fornito sotto forma di liquido sopranatante per colture tissutali in tampone Tris-HCl 0,05 mol/L a pH 7,2, con sodio azide 0,015 mol/L. Contiene una proteina stabilizzante.

Clone:  $\beta$ -Catenin-1                      Isotipo: IgG<sub>1</sub>, kappa  
Concentrazione di IgG murine (mg/L): vedere l'etichetta stampata sulla fiala.

Il reagente M3539 può essere utilizzato con rapporto di diluizione 1:200 per eseguire procedure IHC con il sistema di rivelazione EnVision+, DAB (codice K4006). Queste informazioni sono fornite esclusivamente come linee guida.

La concentrazione ottimale dell'anticorpo può variare a seconda del tipo di campione e del metodo di preparazione adottato, pertanto dovrà essere definita autonomamente da ogni laboratorio.

**Immunogeno**

Proteina di fusione  $\beta$ -catenina-GST C-terminale ricombinante<sup>1</sup>

**Specificità**

L'anti-beta-catenina (clone  $\beta$ -catenina-1) ha riconosciuto la proteina  $\beta$ -catenina umana nei test di Western blot delle cellule A431 dell'epitelio umano e ha riconosciuto la  $\beta$ -catenina murina nei blot delle cellule NIH/3T3 dei fibroblasti di topo. Non è stata osservata reattività crociata con le catenine  $\alpha$  e  $\gamma$ .<sup>1</sup>

**Materiali necessari ma non forniti**

Fare riferimento alle *Istruzioni generali per la colorazione immunocitochimica* di Dako e/o alle istruzioni del sistema di rivelazione in uso. Diluente consigliato per le procedure IHC:

Dako Antibody Diluent (codice S0809).

Il seguente controllo negativo è fortemente consigliato per lo svolgimento delle procedure IHC:

Mouse IgG<sub>1</sub> (codice X0931).

**Precauzioni**

1. Per uso professionale.
2. Questo prodotto contiene sodio azide (NaN<sub>3</sub>), una sostanza chimica fortemente tossica in forma pura. Sebbene non sia classificato come prodotto a rischio, il contenuto di NaN<sub>3</sub> alle concentrazioni indicate può reagire con il rame e il piombo delle tubature formando azidi metalliche fortemente esplosive. Durante lo smaltimento, sciacquare le tubature con abbondante acqua per prevenire l'eventuale accumulo di azide metallica.<sup>5</sup>
3. Adottare le normali procedure previste per il trattamento dei prodotti di origine biologica.
4. Indossare indumenti di protezione personale adeguati, così da evitare il contatto con gli occhi e la pelle.
5. Smaltire i reagenti inutilizzati nel rispetto delle disposizioni locali, regionali e nazionali previste in materia.

## Conservazione

Conservare a 2–8 °C. Non utilizzare dopo la data di scadenza stampata sulla fiala. Se i reagenti sono conservati in condizioni diverse da quelle specificate, le loro condizioni dovranno essere verificate dall'utente. Non sono stati osservati segni evidenti che suggeriscano l'instabilità di questo prodotto, pertanto è opportuno analizzare un controllo positivo e un controllo negativo insieme ai campioni dei pazienti. Qualora si ottenga una colorazione imprevista, che non sia cioè giustificata da un cambiamento delle procedure di laboratorio ma sia dovuta ad un probabile problema dell'anticorpo, contattare l'Assistenza Tecnica della Dako.

## Preparazione dei campioni

### Sezioni in paraffina

L'anti-beta-catenina ( $\beta$ -catenina-1) può essere utilizzato su sezioni di tessuto fissate in formalina e incluse in paraffina.

Le sezioni di tessuto deparaffinate devono essere trattate termicamente prima che la procedura di colorazione IHC abbia luogo. Il recupero del bersaglio comporta l'immersione delle sezioni di tessuto in una soluzione tampone preriscaldata ed il mantenimento di una temperatura costante in un bagnomaria (95-99 °C) o in un vaporizzatore (95-99 °C). Per fare in modo che le sezioni di tessuto aderiscano perfettamente al vetro dei vetrini, si consiglia di utilizzare gli appositi vetrini silanizzati (codice Dako S3003). Si consiglia di seguire un protocollo di riscaldamento della durata di 20 minuti con i prodotti Target Retrieval Solution (codice S1700) o 10x Concentrate (codice S1699).

### Sezioni criostatate e strisci cellulari

L'anti-beta-catenina ( $\beta$ -catenina-1) è indicato per la marcatura di sezioni criostatate fissate in acetone oppure strisci cellulari fissati. Il recupero del bersaglio o dell'antigene non è necessario.

## Procedura di colorazione

Attenersi alla procedura consigliata per il sistema di rivelazione prescelto.

## Interpretazione della colorazione

Il pattern di colorazione cellulare dell'anti-beta-catenina interessa principalmente la membrana, in special modo i bordi tra cellula e cellula. Sono state osservate una colorazione nucleare positiva e una colorazione citoplasmatica diffusa nelle cellule tumorali.<sup>7-16</sup>

## Caratteristiche prestazionali

### Tessuti normali

È stata dimostrata l'espressione di beta-catenina nella membrana dell'epitelio normale. Nell'urotelio normale, è stata osservata un'espressione uniforme e intensa sui bordi intercellulari. La marcatura è risultata più accentuata in corrispondenza dei complessi giunzionali apicali dello strato superficiale delle cellule, mentre l'espressione è risultata totalmente assente nella membrana luminale e in alcune parti delle cellule in contatto con la membrana basale (*congelate e in paraffina*).<sup>17-19</sup> Nell'epitelio normale della mammella, le cellule duttali normali all'interno delle unità lobulari si sono colorate secondo un pattern periferico e citoplasmatico.<sup>7</sup> Nei dotti e negli acini mammari normali, la  $\beta$ -catenina è localizzata sulle superfici basolaterali dell'epitelio luminale; una debole immunocolorazione è stata osservata anche ai bordi laterali delle cellule mioepiteliali (*in paraffina*).<sup>20</sup> Nella mucosa del colon normale, l'immunoreattività della  $\beta$ -catenina è stata osservata lungo i bordi intercellulari di tutte le cellule epiteliali, mentre è risultata assente in corrispondenza del lato basale di fronte alla membrana basale lungo il bordo delle cellule luminali (*congelate e in paraffina*).<sup>8,9,15,21</sup> Nell'epitelio esofageo normale è stata osservata una colorazione positiva uniforme lungo i bordi tra cellula e cellula (*congelate e in paraffina*).<sup>13,15,22</sup> L'espressione di  $\beta$ -catenina, sempre presente tranne che nelle cellule paracheratinizzate dell'epitelio esofageo normale, è risultata più intensa nello strato spinoso dell'epidermide rispetto agli strati basale e parabasale.<sup>22</sup> Nell'epitelio gastrico, l'immunoreattività della  $\beta$ -catenina è distribuita a livello di membrana su tutto l'epitelio delle cripte e delle ghiandole gastriche, con un'intensità maggiore nelle parti più profonde delle ghiandole dell'antra, del cardias e del corpo gastrico.<sup>10,15</sup> È stata inoltre osservata la colorazione citoplasmatica e nucleare nell'epitelio della mucosa gastrica normale (*in paraffina*).<sup>10</sup> Le cellule follicolari della tiroide normale sono risultate immunoreattive principalmente nei punti di contatto tra cellula e cellula, mentre il citoplasma è risultato solo debolmente reattivo (*in paraffina*).<sup>16</sup>

Anche le cellule endoteliali, le cellule muscolari e i neuroni (*in paraffina*) hanno evidenziato una debole immunoreattività localizzata a livello di membrana.<sup>10,18</sup>

### Cellule patologiche

L'espressione della beta-catenina è stata dimostrata eseguendo test immunostochimici in svariati tumori. Tra le neoplasie con immunoreattività positiva alla  $\beta$ -catenina vanno annoverati il carcinoma a cellule di transizione della vescica, gli adenomi e l'adenocarcinoma del colon, l'adenocarcinoma della mammella, il carcinoma epidermoide esofageo, il carcinoma epidermoide primario della testa e del collo, l'adenocarcinoma dello stomaco, il carcinoma ovarico e tiroideo.<sup>7-24</sup> Alcuni studi hanno associato l'espressione anomala di  $\beta$ -catenina (debole, con bassa percentuale di cellule positive o con localizzazione nucleare e/o citoplasmatica) a situazioni clinicopatologiche quali un grado istologico elevato e metastasi.<sup>13,17,18,22</sup>

## Bibliografia

1. Antibody Certification. On file at Dako
2. Bracke ME, Van Roy FM, Mareel MM. The E-cadherin/catenin complex in invasion and metastasis. *Curr Top Microbiol Immunol* 1996;213 (Pt 1):123-61
3. 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(6):1711-7
4. Willert K, Nusse R.  $\beta$ -catenin: a key mediator of Wnt signaling. *Oncogenes and cell proliferation. Current Opinion in Genetics & Development* 1998;8(1):95-102
5. Department of Health, Education and Welfare, National Institute for Occupational Safety and Health, Rockville, MD. "Procedures for the decontamination of plumbing systems containing copper and/or lead azides." DHHS (NIOSH) Publ. No. 78-127, Current 13. August 16, 1976
6. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988: Final Rule, 57FR7163. February 28, 1992
7. Bukholm IK, Nesland JM, Karesen R, Jacobsen U, Borresen-Dale A-L. E-cadherin and  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -catenin protein expression in relation to metastasis in human breast carcinoma. *J Pathol* 1998;185(3):262-6
8. van der Wurff AAM, Vermeulen SJT, van der Linden EPM, Mareel MM, Bosman FT, Arends J-W. Patterns of  $\alpha$ - and  $\beta$ -catenin and E-cadherin expression in colorectal adenomas and carcinomas. *J Pathol* 1997;182(3):325-30

9. Hao X, Tomlinson I, Ilyas M, Palazzo JP, Talbot IC. Reciprocity between membranous and nuclear expression of  $\beta$ -catenin in colorectal tumours. *Virchows Arch* 1997;431(3):167-72
10. Jawhari A, Jordan S, Poole S, Browne P, Pignatelli M, Farthing MJG. Abnormal immunoreactivity of the E-cadherin-catenin complex in gastric carcinoma: relationship with patient survival. *Gastroenterology* 1997;112(1):46-54
11. Davies BR, Worsley SD, Ponder BAJ. Expression of E-cadherin,  $\alpha$ -catenin, and  $\beta$ -catenin in normal ovarian surface epithelium and epithelial ovarian cancers. *Histopathology* 1998;32(1):69-80
12. Inomata M, Ochiai A, Akimoto S, Kitano S, Hirohashi S. Alterations of  $\beta$ -catenin expression in colonic epithelial cells of familial adenomatous polyposis patients. *Cancer Res* 1996;56(9):2213-7
13. Krishnadath KK, Tilanus HW, Van Blankenstein M, Hop WCJ, Kremers ED, Dinjens WNM, Bosman FT. Reduced expression of the cadherin-catenin complex in oesophageal adenocarcinoma correlates with poor prognosis. *J Pathol* 1997;182(3):331-8
14. Gamallo C, Palacios J, Moreno G, Calvo de Mora J, Suarez A, Armas A.  $\beta$ -catenin expression pattern in stage I and II ovarian carcinomas. *Am J Pathol* 1999;155(2):527-36
15. Takayama T, Shiozaki H, Shibamoto S, Oka H, Kimura Y, Tamura S, Inoue M, Monden T, Ito F, Monden M.  $\beta$ -Catenin expression in human cancers. *Am J Pathol* 1996;148(1):39-46
16. Cerrato A, Fulciniti F, Avallone A, Benincasa G, Palombini L, Grieco M. Beta- and gamma-catenin expression in thyroid carcinomas. *J Pathol* 1998;185(3):267-72
17. Shimazui T, Schalken JA, Giroldi LA, Jansen CFJ, Akaza H, Koiso K, Debruyne FMJ, Bringuier PP. Prognostic value of cadherin-associated molecules ( $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -catenins and p120<sup>cas</sup>) in bladder tumors. *Cancer Res* 1996;56(18):4154-8
18. Mialhe A, Louis J, Montlevier S, Pech M, Pasquier D, Bosson J-L, Rambeaud J-J, Seigneurin D. Expression of E-cadherin and  $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ -catenins in human bladder carcinomas: are they good prognostic factors? *Invasion Metastasis* 1997;17(3):124-37
19. Garcia del Muro X, Torregrosa A, Munoz J, Castellsague X, Condom E, Vigues F, Arance A, Fabra A, Germa JR. Prognostic value of the expression of E-cadherin and  $\beta$ -catenin in bladder cancer. *Eur J Cancer* 2000;36(3):357-62
20. Hashizume R, Koizumi H, Ihara A, Ohta T, Uchikoshi T. Expression of  $\beta$ -catenin in normal breast tissue and breast carcinoma: a comparative study with epithelial cadherin and  $\alpha$ -catenin. *Histopathology* 1996;29(2):139-46
21. Andrews NA, Jones AS, Helliwell TR, Kinsella AR. Expression of the E-cadherin-catenin cell adhesion complex in primary squamous cell carcinomas of the head and neck and their nodal metastases. *Br J Cancer* 1997;75(10):1474-80
22. Nakanishi Y, Ochiai A, Akimoto S, Kato H, Watanabe H, Tachimori Y, Yamamoto S, Hirohashi S. Expression of E-cadherin,  $\alpha$ -catenin,  $\beta$ -catenin and plakoglobin in esophageal carcinomas and its prognostic significance. *Oncology* 1997;54(2):158-65
23. Palacios J, Gamallo C. Mutations in the  $\beta$ -catenin gene (CTNNB1) in endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Res* 1998;58(7):1344-7
24. Bukholm IK, Nesland JM, Borresen-Dale A-L. Re-expression of E-cadherin,  $\alpha$ -catenin and  $\beta$ -catenin, but not of  $\gamma$ -catenin, in metastatic tissue from breast cancer patients. *J Pathol* 2000;190(1):15-9

 <b>REF</b> Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Consultare le istruzioni per l'uso
 Fabbricante	 <b>LOT</b> Codice del lotto	 Utilizzare entro
 <b>EC REP</b> Rappresentante autorizzato per l'Unione Europea	 <b>IVD</b> Dispositivo medico-diagnostico in vitro	



Dako North America, Inc.  
6392 Via Real  
Carpinteria, California 93013 USA

Tel 805 566 6655  
Fax 805 566 6688  
Technical Support 800 424 0021  
Customer Service 800 235 5763

**EC REP**

Dako Denmark A/S  
Produktionsvej 42  
DK-2600 Glostrup Denmark

Tel +45 4485 9500  
Fax +45 4485 9595

www.dako.com

PT0039/Rev C

Edition 06/07