

Claudina-7 - Anticorpo Policlonal anti-humano

Rabbit anti-human Claudin-7 Antibody (Polyclonal)

Código **EP-12-50973** **1ml**

- Diluição recomendada : 1:100
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : Policlonal
- Isotipo Ig : IgG
- Imunógeno : Peptídeo sintético correspondente ao domínio C-terminal da claudina humana 7.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Tecido renal ou seção de intestino grosso
- Marcação : Membrana celular

Aplicações conhecidas

Em Imuno-histoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina. Não testado em tecidos congelados e técnicas de western-blotting.

Especificações:

A família de proteínas claudinas consiste de 24 diferentes moléculas de adesão célula à célula que constituem o núcleo fundamental das junções estreitas, responsáveis pelo controle do fluxo das moléculas entre as células epiteliais. Este controle é realizado criando uma barreira bioquímica contra a água e restringindo a difusão lateral de lipídios e proteínas da membrana em direção aos espaços paracelulares entre a membrana apical e a membrana basal, o que, no entanto, permite o transporte de moléculas polares. Este anticorpo reconhece a claudina 7, cuja expressão é controlada por um gene localizado no cromossomo 17. Além das funções gerais de controle metabólico descritas acima para as claudinas, a claudina 7, especificamente em sua forma fosforilada: 1) interage com o EPCAM (Molécula de Adesão Celular Epitelial) regulando sua expressão; 2) promove a expressão normal da E-caderina pelas células epiteliais; e 3) regula a expressão do antigio específico da próstata (PSA) e está envolvido no mecanismo de regulação do receptor de androgênio. Nesse sentido, sua expressão máxima ocorre em tecidos com níveis normais de di-hidrotestosterona (DHT), enquanto altas concentrações dessa molécula inibem sua presença. A Claudina 7 é frequentemente expressa no epitélio do néfron distal, na próstata, no epitélio das vias aéreas e em outros epitélios do tipo glandular, onde apresenta coloração da membrana. As células do SNC (Sistema Nervoso Central) e as células linfóides são negativas. As claudinas estão presentes em uma variedade de tecidos normais, hiperplásicos e benignos, bem como em neoplasias benignas e malignas que apresentam diferenciação epitelial. É por essa razão que a expressão diferencial de seus diferentes membros pode ser usada para confirmar a identidade histológica de algumas neoplasias. Assim, a detecção imunohistoquímica da claudina, incluindo a claudina 7, permite diferenciar e confirmar o diagnóstico entre: 1) oncocitomas e carcinomas renais de células cromofóbicas; 2) carcinoma endometriode e carcinoma seroso papilar uterino; 3) mesotelioma e metástase de adenocarcinoma; 4) carcinoma hepatocelular e colangiocarcinoma; e 5) carcinomas gástricos difusos e do tipo intestinal. Sua utilidade também foi demonstrada para distinguir entre carcinomas ductais e lobulares de alto grau e infiltração de carcinomas da mama. Além disso, sua expressão citoplasmática em tumores pseudopapilares sólidos do pâncreas possibilita o diagnóstico diferencial com outros tumores como o pancreatoblastoma, o carcinoma de células acinares ou os tumores neuroendócrinos do pâncreas, já que todos apresentam coloração da membrana da claudina 7. Da mesma forma, a expressão de certas claudinas pode ser usada como um marcador prognóstico em várias neoplasias, como os carcinomas nasofaríngeos, onde a superexpressão de claudina 7 se correlaciona com o grau do tumor, a presença de metástases à distância e a sobrevida. Resultados semelhantes foram obtidos em adenocarcinomas ovarianos. Da mesma forma, um aumento na expressão das claudinas 1 e 7 também foi detectado em lesões pré-malignas cervicais e neoplasias invasivas em comparação com o epitélio normal.

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 10X 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 horizontal, 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. Lioni M, Brafford P, Andl C, Rustgi A, El-Deiry W, Herlyn M, Smalley KS. Dysregulation of claudin-7 leads to loss of E-cadherin expression and the increased invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells. *Am J Pathol.* 2007;170:709-21.
2. Zheng JY, Yu D, Foroohar M, Ko E, Chan J, Kim N, Chiu R, Pang S. Regulation of the expression of the prostate-specific antigen by claudin-7. *J Membr Biol.* 2003;194:187-197.
3. Kominsky SL, Argani P, Korz D, Evron E, Raman V, Garrett E, Rein A, Sauter G, Kallioniemi OP, Sukumar S. Loss of the tight junction protein claudin-7 correlates with histological grade in both ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncogene.* 2003;22:2021-2033.
4. Tassi RA, Bignotti E, Falchetti M, Ravanini M, Calza S, Ravaggi A, Bandiera E, Facchetti F, Pecorelli S, Santin AD. Claudin-7 expression in human epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2008;18:1262-1271.
5. Osunkoya AO, Cohen C, Lawson D, Picken MM, Amin MB, Young AN. Claudin-7 and claudin-8: immunohistochemical markers for the differential diagnosis of chromophobe renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *Hum Pathol.* 2009;40:206-210.
6. Comper F, Antonello D, Beghelli S, Gobbo S, Montagna L, Pederzoli P, Chilosi M, Scarpa A. Expression pattern of claudins 5 and 7 distinguishes solid-pseudopapillary from pancreatoblastoma, acinar cell and endocrine tumors of the pancreas. *Am J Surg Pathol.* 2009;33:768-774.
7. Hsueh C, Chang YS, Tseng NM, Liao CT, Hsueh S, Chang JH, Wu IC, Chang KP. Expression pattern and prognostic significance of claudins 1, 4, and 7 in nasopharyngeal carcinoma. *Hum Pathol.* 2010;41:944-950.
8. Ouban A, Ahmed AA. Claudins in human cancer: a review. *Histol Histopathol.* 2010;25:83-90.
9. Truong LD, Shen SS. Immunohistochemical diagnosis of renal neoplasms. *Arch Pathol Lab Med.* 2011;135:92-109.
10. Shen SS, Truong LD, Scarpelli M, Lopez-Beltran A. Role of immunohistochemistry in diagnosing renal neoplasms: when is it really useful? *Arch Pathol Lab Med.* 2012; 136:410-417.