COX2 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Ciclooxigenase Clone (SP21)

Rabbit anti-human COX2 (Cyclooxygenase 2) Monoclonal Antibody (Clone SP21)

Código **EP-12-51033** **1ml**

- Diluição recomendada : 1:50
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : SP21
- Isotipo Ig : Coelho IgG
- Imunógeno : Péptido sintético correspondente ao terminal-C da ratazana COX-2.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Placenta normal, adenocarcinoma do cólon.
- Marcação : Citoplasma 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:

COX-2 (ciclooxigenase-2) é uma enzima induzível. Está envolvida na resposta de células a fatores de crescimento, promotores tumorais e citocinas que induzem sua expressão. Dado o seu papel na síntese de prostaglandinas, a COX-2 é, portanto, de interesse em estudar a regulação da resposta imune. A COX-2 é induzida por uma grande variedade de estímulos e foi inicialmente identificada como gene de resposta imediata ao crescimento precoce. Além disso, a expressão de COX-2 aumentou acentuadamente em 85-90% do adenocarcinoma colorretal humano, enquanto os níveis de COX-1 permaneceram inalterados. A COX-2 é expressa em células normais dos ácinos mamários, colo uterino, útero, tubas uterinas, trofoblasto de vilosidades coriônicas, próstata, vesículas seminais, epidídimo, epitélio urotelial da bexiga, glândulas gástricas ou vesícula biliar. Consequentemente, a COX-2 é expressa em muitos tumores sólidos. Intensa a moderadamente, citoplasma e, por vezes, a expressão da membrana, são observados em carcinomas colorretal, da próstata, cervical, endometrial, ovárico, urotelial, pancreático e hepático. A COX-2 é frequentemente expressa em carcinomas de mama, enquanto que até 80% dos adenomas hipofisários são positivos. O valor prognóstico da expressão de COX-2 é controverso.

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.

Grupo Erviegas
Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07

Protocolo:

1 - Desparafinização - Estufa 60-65 ℃ 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).

Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07

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. Raymond N, Dubois RN, Abramson SB, Crofford L, Gupta RA, Simon LS, Van De Putte LBA, Lipsky PE. Cyclooxygenase in biology and disease FASEB 12:1063-1073. 1998.
2. Subbaramaiah K, Telang N, Ramonetti JT, Araki R, DeVito B, Weksler BB, Dannenberg AJ. Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells. Cancer Res; 56: 4424–4429. 1996.
3. Edwards J, Mukherjee R, Munro AF, Wells AC, Almushatat A, Bartlett JM.. HER2 and COX2 expression in human prostate cancer Eur J Cancer; 40: 50-55. 2004.
4. Witton CJ, Hawe SJK, Cooke TG, Bartlett JMS. Cyclooxygenase 2 (COX2) expression is associated with poor outcome in ER-negative, but not ER-positive, breast cancer Histopathology 45: 47-54. 2004.
5. Lee CH, Roh JW, Choi JS, Kang S, Park IA, Chung HH, Jeon YT, Kim JW, Park NH, Kang SB, Song YS. Cyclooxygenase-2 is an independent predictor of poor prognosis in uterine leiomyosarcomas. Int J Gynecol Cancer; 21(4): 668-672. 2011.
6. Carmody Soni EE, Miller BJ, Scarborough MT, Reith J, Gibbs CP. Cyclooxygenase-2 expression is not associated with clinical outcome in synovial sarcoma. Oncol Rep; 26(6): 1513-1517. 2011.
7. Menczer J, Schreiber L, Sukmanov O, Czernobilsky B, Berger E, Golan A, Levi T. COX-2 expression in nonepithelial ovarian malignancies. Int J Gynecol Pathol; 30(1): 41-45. 2011.

Erviegas Química Fina e Plásticos Ltda
Grupo Erviegas Al. Plutão, 593 - Indaiatuba - SP - 13347-656 - Tel (11) 5034.2227 - sac@grupoerviegas.com.br - CNPJ: 46.271.011/0001-07