

Citoqueratina 17 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP98)

Rabbit anti-human Cytokeratin 17 Monoclonal Antibody (Clone EP98)

Código	EP-12-51143	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	EP98
• Isotipo Ig	:	Coelho IgG
• Imunógeno	:	Peptídeo sintético correspondente à citoqueratina humana 17.
• Reatividade	:	RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Seção de tecido da traqueia
• 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:

As proteínas de filamentos intermediários amplamente conhecidas, que medem entre 7 e 22 nm de diâmetro (isto é, um tamanho entre o da actina -5-7 nm e a tubulina -22-25 nm-), juntamente com as anteriores, pertencem para o citoesqueleto dos vertebrados. Essa superfamília é composta de seis subfamílias de moléculas com diferentes expressões teciduais. Citoqueratinas compõem a homologia I e II em humanos. Eles são codificados em mais de 49 genes diferentes nos cromossomos 17 (I) e 12 (II). A nomenclatura adotada em 1982 por Moll e Franke atribui as classificações 1 a 8 para as citoqueratinas tipo II (neutras ou básicas) e entre 9 e 21 para as tipo I (ácidas). Hoje em dia, uma nomenclatura análoga foi definida para nomear a queratina do cabelo com a adição das letras Ha e Hb para separar as do grupo I do grupo II. Estruturalmente falando, as citoqueratinas compartilham com o restante dos filamentos intermediários um eixo central de 310 aminoácidos composto de quatro domínios α -hélices (1A, 1B, 2A e 2B) altamente preservados que definem o tipo de filamento intermediário que eles irão compor após sua embalagem, separados por três ligações (L1, L12 e L2) e dois domínios extremos altamente diferentes em tamanho e sequência (cabeça-1 e cauda-2-), cada um deles com constante (E1 / E2), variável (V1 / V2) e regiões de homologia (H1 / H2) os últimos são característicos das queratinas tipo II e ausentes do tipo I. Nos domínios variáveis, possuem as propriedades mais imunogênicas e as principais diferenças entre cada tipo de queratina. Usualmente, as ceratinas se agrupam nos heterodímeros I / II e se co-expressam em pares especificamente em cada tecido. A citoqueratina 17 de 46 KDa de massa molecular é um filamento intermediário do tipo I com um ponto isoelétrico de 5,1 codificado pelo gene de mesmo nome localizado no cromossomo 17. A citoqueratina 17 é expressa nas células basais e suprabasais do epitélio complexo da pele e apêndices cutâneos. Além disso, é expresso nas células basais do epitélio pseudoestratificado da traquéia, laringe e brônquios. Este anticorpo reage com as células mioepiteliais das glândulas salivares e sudoríparas. Este anticorpo é útil para diagnosticar neoplasias epiteliais que expressam citoqueratina 17, como carcinomas basocelulares, cânceres de pulmão escamoso, carcinomas adenoides císticos e mucoepidermóides da glândula salivar, mesoteliomas, colangiocarcinomas e numerosos adenocarcinomas pulmonares (> 50%), adenocarcinomas colorretais (<50%), adenocarcinomas pancreáticos (30%). A citoqueratina 17 não é detectada em adenocarcinomas gástricos, adenocarcinomas colorretais mucinosos, carcinomas hepatocelulares e carcinomas de células de Merkel.

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 coloração horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05021.

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. Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology*. 40 (5): 403-439 (2002).

