EpCAM – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Antígeno Epitelial Específico

Mouse anti-human Ep-CAM/Epithelial Specific Antigen Monoclonal Antibody - (Clone MOC-31)

Código **EP-12-51353** **1ml**

- Diluição recomendada : 1:50
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : MOC31
- Isotipo Ig : Camundongo IgG1/k
- Imunógeno : Células da linha celular GLS-1 de carcinoma de células pequenas de pulmão, tratadas com neuraminidase.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Adenocarcinoma de mama, cólon ou pulmão
- Marcação : Membrana celular e citoplasmática.

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

Especificações:
Este anticorpo reage com a glicoproteína transmembranar de 40 kDa, presente na maioria dos epitélios normais e tumorais.

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.

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).

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

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. Myklebust AT, Beiske K, Pharo A, Davies CD, Aamdal S, Fodstad O.. Selection of anti-SCLC antibodies for diagnosis of bone marrow metastasis. BrJ Canc Suppl; 14: 49-53. 1991.
2. Souhami RL, Beverley PC, Bobrow LG, Ledermann JA. Antigens of lung cancer: results of the second international workshop on lung cancer antigens. J Natl Cancer Inst; 83(9):609-612. 1991.
3. Carella R, Deleonardi G, D'Errico A, Salerno A, Egarter-Vigl E, Seebacher C, Donazzan G, Grigioni WF. Immunohistochemical panels for differentiating epithelial malignant mesothelioma from lung adenocarcinoma: a study with logistic regression analysis. Am J Surg Pathol; 25: 43-50. 2001
4. García-Caballero T, Pintos E, Gallego R, Parrado C, Blanco M, Bjornhagen V, Forteza J, Beiras A. MOC-31/Ep-CAM immunoreactivity in Merkel cells and Merkel cell carcinomas. Histopathology; 43(5): 480-484. 2003.
5. Ordóñez NG.The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma: a comparative study of epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. Am J Surg Pathol; 27(8): 1031-1051. 2003.
6. Ordóñez NG Value of immunohistochemistry in distinguishing peritoneal mesothelioma from serous carcinoma of the ovary and peritoneum: a review and update. Adv Anat Pathol; 13(1):16-25. 2006
7. Ordóñez NG. The diagnostic utility of immunohistochemistry in distinguishing between epithelioid mesotheliomas and squamous carcinomas of the lung: a comparative study. Mod Pathol; 19(3): 417-428. 2006.
8. Hecht JL, Pinkus JL, Pinkus GS. Monoclonal antibody MOC-31 reactivity as a marker for adenocarcinoma in cytologic preparations. Cancer; 108(1): 56-59. 2006.
9. Pai RK, West RB.MOC-31 exhibits superior reactivity compared with Ber-EP4 in invasive lobular and ductal carcinoma of the breast: a tissue microarray study. Appl Immunohistochem Mol Morphol; 17(3): 202-206. 2009.

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