

## MUCIN-2 - Anticorpo Monoclonal anti-humano

Mouse anti-human Mucin 2 (MUC-2) Monoclonal Antibody (Clone Ccp58)

Código	EP-12-52083	1ml
• Diluição recomendada	:	1:50
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	Ccp58
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1
• Imunógeno	:	Peptídeo sintético representando uma região glicoproteína Muc-2.
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	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:

As mucinas epiteliais secretadas são grandes macromoléculas que exibem extrema polidispersividade. Mucina 2 é a principal mucina intestinal. Os O-glycans são ligados ao MUC2 em um arranjo potencialmente diverso, o que é crucial para sua interação com lectinas endógenas e exógenas. A MUC2 é expressa no epitélio glandular (células caliciformes) de intestino delgado e grosso normal, esôfago de Barrett e epitélio glandular mamário; não se expressa em estômago ou pâncreas. Nos tecidos neoplásicos, o padrão de expressão das mucinas nos tumores tem sido associado à localização do tumor, à agressividade biológica e à capacidade de infiltração de certas malignidades. A MUC2 é expressa por adenocarcinoma do ânus, do cólon e do apêndice, carcinoma colóide da mama, doença de Paget da mama e carcinoma da próstata. Não é expresso por carcinomas endometriais, carcinomas mamários ou pancreatobiliares não mucinosos.

### 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 - Desparafinação - 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 desparafinar, 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 comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

Câmara pressurizada MuscaePlus (EasyPath) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.

Dois séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCENDENTE: para desparafinar 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 desparafinação 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](http://www.grupoerviegas.com.br).

### Referências Bibliográficas

1. Lehmann JM, Riethmuller G, Johnson, J P. MUC18, a marker of tumor progression in human melanoma, shows sequence similarity to the neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. Proc. Natl. Acad. Sci. USA; 86: 9891–9895. 1989.
2. Moniaux N, Escande F, Porchet N, Aubert J P, Batra S K, Structural organization and classification of the human mucin genes. Front. Biosci; 6: D1192-D1206. 2001.
3. Chen Y, Zhao Y H, Kalaslavadi T B, Hamati E. et al., Genome-wide search and identification of a novel gel-forming mucin MUC19/Muc19 in glandular tissues. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol; 30: 155-165. 2004.
4. Higuchi T, Orita T, Nakanishi S, Katsuya K. et al., Molecular cloning, genomic structure, and expression analysis of MUC20, a novel mucin protein, up-regulated in injured kidney. J. Biol. Chem; 279: 1968–1979. 2004.
5. Hollingsworth, M. A., Swanson, B. J., Mucins in cancer: Protection and control of the cell surfaces. Nat. Rev. Cancer; 4: 45–60. 2004.
6. Chaves P, Cruz C, Dias Pereira A, Suspiro A, de Almeida JC, Leitao CN, Soares J. Gastric and intestinal differentiation in Barrett's metaplasia and associated adenocarcinoma. Dis Esophagus; 18(6): 383-387. 2005.
7. O'Connell FP, Wang HH, Odze RD. Utility of immunohistochemistry in distinguishing primary adenocarcinomas from metastatic breast carcinomas in the gastrointestinal tract. Arch Pathol Lab Med; 129(3): 338-347. 2005.
8. Leteurtre E, Zerimech F, Piessen G, Wacrenier A, Leroy X, Copin MC, Mariette C, Aubert JP, Porchet N, Buisine MP. Relationships between mucinous gastric carcinoma, MUC2 expression and survival. World J Gastroenterol; 12(21): 3324-3331. 2006.
9. Mino-Kenudson M, Tomita S, Lauwers GY. Mucin expression in reactive gastropathy: an immunohistochemical analysis. Arch Pathol Lab Med; 131(1): 86-90. 2007.
10. Mizoshita T, Tsukamoto T, Inada KI, Hirano N, Tajika M, Nakamura T, Ban H, Tatematsu M. Loss of MUC2 expression correlates with progression along the adenoma-carcinoma sequence pathway as well as de novo carcinogenesis in the colon. Histol Histopathol; 22(3): 251-260. 2007.