

Calretinina- Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (BSR235)

Rabbit anti-human Calretinin Monoclonal Antibody (Clone BSR235)

Código	EP-12-53283	1ml	Concentrado
• Diluição recomendada	:	1:50	
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco	
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)	
• Clone	:	BSR235	
• Isotipo Ig	:	IgG de coelho	
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)	
• Controle positivo	:	Seção tecidual procedente de um mesotelioma. Caso não seja possível, também pode-se usar como controle um corte de cérebro humano normal, onde existem neurônios dispersos positivos para a calretinina.	
• Marcação	:	Nuclear 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 é específico para Calretinina humana, que é uma proteína ligada ao cálcio de 31,5 kD de massa molecular.

A Calretinina, juntamente com a Calbindina de 28kD (com a qual tem uma alta homologia) e a proteína S-100, pertencem à família de proteínas "EF-hand". Esta família é caracterizada por mostrar uma sequência peculiar de aminoácidos dispostos em dupla hélice e dobrado de forma semelhante aos dedos da mão, para permitir a ligação específica de cálcio.

A calretinina é amplamente expressa no tecido nervoso central e periférico, particularmente na retina e neurônios sensoriais. Além disso, a sua presença tem sido evidente no mesotélio normal e em algumas células estromais secretoras do ovário e testículo humano.

As proteínas da família "EF-hand", juntamente com a parvalbumina e a calmodulina, são muito importantes na área da neurohistologia para identificar diferentes tipos de neurônios. A expressão da calretinina é muito característica dos neurônios gigantes transitórios de Cajal-Retzius que governam a diferenciação dos neurônios no sistema nervoso embrionário e fetal. Embora no epitélio intestinal e no túbulo renal, a calbindina desempenha um papel fundamental na absorção do cálcio dependente da vitamina D. A função exata da calretinina tanto no SNC como nas outras células que a contêm permanece desconhecida, mas sabe-se que intervém na fisiologia celular como um tampão de cálcio, ou como reguladora da apoptose.

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 IHC 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 (Muscae Plus / 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 Muscae Plus (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.

Referências Bibliográficas:

1. Rogers J, Khan M, Ellis J: Calretinin and other CaBPs in the nervous system. *Adv Exp Med Biol.* 269: 195-203 (1990).
2. Schwaller B, Buchwald P, Blumcke I, Celio MR, Hunziker W: Characterisation of a polyclonal antiserum against purified human recombinant calcium binding protein calretinin. *Cell Calcium.* 14: 639-648 (1993).
3. Vega JA, Haro JJ, Del Valle ME: Immunohistochemistry of human cutaneous Meissner and pacinian corpuscles. *Microsc Res Tech.* 34:351-61 (1996).
4. Doglioni C, Tos AP, Laurino L, Iuzzolino P, Chiarelli C, Celio MR, Viale G: Calretinin: a novel immunocytochemical marker for mesothelioma. *Am J Surg Pathol.* 20:1037-46 (1996).
5. Leers MP, Aarts MM, Theunissen PH: E-cadherin and calretinin: a useful combination of immunochemical markers for differentiation between mesothelioma and metastatic adenocarcinoma. *Histopathology.* 32:209-16 (1998).
6. Nagel H, Hemmerlein B, Ruschenburg I, Huppe K, Droese M: The value of anti-calretinin antibody in the differential diagnosis of normal and reactive mesothelia versus metastatic tumors in effusion cytology. *Pathol Res Pract.* 194:759-64 (1998).
7. Dei Tos AP, Doglioni C: Calretinin: a novel tool for diagnostic immunohistochemistry. *Adv Anat Pathol.* 5: 61-66 (1998).
8. Ordonez NG: The immunohistochemical diagnosis of epithelial mesothelioma. *Hum Pathol.* 30:313-23 (1999).
9. Cappello F, Barnes L: Synovial sarcoma and malignant mesothelioma of the pleura: review, differential diagnosis and possible role of apoptosis. *Pathology.* 33:142-8 (2001).
10. Cao QJ, Jones JG, Li M: Expression of calretinin in human ovary, testis, and ovarian sex cord-stromal tumors. *Int J Gynecol Pathol.* 20:346-52 (2001).
11. Ordonez NG: The immunohistochemical diagnosis of mesothelioma: a comparative study of epithelioid mesothelioma and lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol.* 27:1031-51 (2003).