

Antígeno Carcinoembrionário (CEA) – Anticorpo Monoclonal de Camundongo – Clone (COL-1)

Código	EP-12-54501	0.1ml	1:50 – 1:200	Concentrado
	EP-12-54506	6ml	Diluído	Pronto para uso

- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : COL-1
- Isotipo Ig : IgG2a/kappa
- Imunógeno : CEA
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Carcinoma de cólon
- Marcação : Citoplasmática e membrana luminal

Aplicações conhecidas

Em Imunohistoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina.

Especificações:

A família do gene CEA pertence à superfamília de genes para imunoglobulina (IgSF) composta por um grande número de genes. As proteínas de superfícies celulares associadas a CEA são altamente glicosiladas, multifuncionais e expressas abundantemente. A família do Antígeno Carcinoembrionário Humano (CEA) pode ser dividida em dois subgrupos de acordo com os meios de fixação das glicoproteínas na membrana celular: ligação glicofosfatidil-inositol (GPI) e ligação transmembrana. Os membros da família CEA presentes no subgrupo de ligação-GPI são CEA (CD66e), antígeno não específico de reação cruzada (NCA, CD66c), membros 6 da família-gene CEA (CGM6, CD66b) e 2 (CGM2). Os membros da ligação transmembrana incluem a glicoproteína biliar (BGP, C-CAM-L Humano e C-CAM-S, CD66a), CGM1 (CD66d) e CGM7. Resultados recentes sugerem que os membros da ligação-GPI tendem a ser regulados em tumores humanos, enquanto que membros de ligação-transmembrana tendem a ser suprimidos. O clone CEA (CD66e) COL-1 não apresentou reatividade detectável para outros membros da família CEA como NCA ou BGP. COL-1 é utilizado na detecção de focos de carcinoma gástrico e distinção entre adenocarcinoma pulmonar de mesotelioma. Pode marcar diversos tipos de adenocarcinomas, mas não marca glândulas benignas, estroma ou células prostáticas malignas. Não ocorre reação com cólon normal, sem doenças de cólon, mas foi observado fraca reatividade em tecidos aparentemente normais distante alguns centímetros do câncer de cólon.

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.

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 600 ml 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) ou Diva (Biocare), 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 Muscae Plus (EasyPath) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.

Dois 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.

Referência Bibliográfica

1. Luo W, et. al. Association of an 80 kDa protein with C-CAM1 cytoplasmic domain correlates with C-CAM1-mediated growth inhibition. *Oncogene* 1998 Mar 5;16 (9):1141-1147.
2. Obrink B. CEA adhesion molecules: multifunctional proteins with signal-regulatory properties. *Curr Opin Cell Biol.* 1997 Oct; 9(5): 616-626. Review.
3. Screaton RA, Penn LZ, Stanners CP. Carcinoembryonic antigen, a human tumor marker, cooperates with Myc and Bcl-2 in cellular transformation. *J Cell Biol* 1997 May 19;137(4):939-952.
4. Nollau P, et. al. Expression of CD66a (human C-CAM) and other members of the carcinoembryonic antigen gene family of adhesion molecules in human colorectal adenomas. *Cancer Res* 1997 Jun 15;57(12):2354-2357.
5. Rojas M, DeMarte L, Screaton RA, Stanners CP. Radical differences in functions of closely related members of the human carcinoembryonic antigen gene family. *Cell Growth Differ* 1996 May;7(5):655-662.
6. Shi ZR, Tacha D, Itzkowitz SH. Monoclonal antibody COL-1, which reacts with restricted epitopes on carcinoembryonic antigen: an immunohistochemical study. *J Histochem Cytochem* 1994 Sept;42(9):1215-9.
7. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA 1991;7(9). Order code M29-P.