

Citoqueratina AE1-AE3 – Anticorpo Monoclonal anti-humano

Mouse anti-human Keratin AE1-AE3 Cocktail Antibody (Clone AE1-AE3)

Código	EP-12-51083	1ml	Concentrado
	EP-12-51081	0.1ml	Concentrado
	EP-12-51084	1ml	Pronto para uso
	EP-12-51086	6ml	Pronto para uso

- Diluição recomendada : 1:50 – 1:150
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : AE1+AE3
- Isotipo Ig : Camundongo IgG+IgG
- Imunógeno : Células epidérmicas humanas,
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Microarranjo de tecidos de diferentes órgãos epiteliais.
- Marcação : Citoplasma e Membrana 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:

A nomenclatura cunhada em 1982 por Moll e Franke atribuída varia de 1 a 8 para a queratina tipo II (neutra ou básica) e entre 9 e 21 para a tipo I (ácida). No entanto, e devido à alta homologia entre as diferentes moléculas, é comum que um único anticorpo monoclonal reaja com diferentes tipos de queratinas. Este anticorpo, compreendendo um coquetel de anticorpos monoclonais AE1 e AE3, reconhece simultaneamente as queratinas 10, 14, 15, 16 e 19 e 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, de modo que é considerado um dos os mais amplos reagentes de espectro para a identificação de origem epitelial em uma determinada neoplasia. No entanto, deve-se ter em mente que, além do hepatocarcinoma, outros tumores freqüentemente podem ser negativos para o anticorpo AE1-AE3, como rim, adrenal, próstata e carcinomas neuroendócrinos. Por estas razões, o anticorpo AE1-AE3 queratina deve ser usado em conjunto com outras queratinas de amplo espectro. Células dendríticas, fibroblastos e células musculares lisas também podem ser positivas.

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 (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 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 comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05022.

Câmara pressurizada Muscae Plus (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. Moll R, Franke WW, Schiller DL, Geiger B, Krepler R: The catalog of human cytokeratins: patterns of expression in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*. 1982; 31: 11-24.
2. Tseong SC, Jarvinen MJ, Nelson WG, Huang JW, Woodcock-Mitchell J, Sun TT: Correlation of specific keratins with different types of epithelial differentiation: monoclonal antibody studies. *Cell*. 1982; 30:361-72.
3. Cooper D, Schermer A, Pruss R, Sun TT: The use of a1F, AE1, and AE3 monoclonal antibodies for the identification and classification of mammalian epithelial keratins. *Differentiation*. 1984; 28:30-5.
4. Pinkus GS, O'Connor EM, Etheridge CL, Corson JM: Optimal immunoreactivity of keratin proteins in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue requires preliminary trypsinization. An immunoperoxidase study of various tumours using polyclonal and monoclonal antibodies. *J Histochem Cytochem*. 1985; 33:465-73.
5. Pinkus GS, Etheridge CL, O'Connor EM: Are keratin proteins a better tumor marker than epithelial membrane antigen? A comparative immunohistochemical study of various paraffin-embedded neoplasms using monoclonal and polyclonal antibodies. *Am J Clin Pathol*. 1986; 85:269-77.
6. Listrom MB, Dalton LW: Comparison of keratin monoclonal antibodies MAK-6, AE1:AE3, and CAM-5.2. *Am J Clin Pathol*. 1987 Sep;88(3):297-301.
7. Levy R, Czernobilsky B, Geiger B: Subtyping of epithelial cells of normal and metaplastic human uterine cervix, using polypeptide-specific cytokeratin antibodies. *Differentiation*. 1988; 39: 185-96.
8. Mygind H, Nielsen B, Moe D, Clausen H, Dabelsteen E, Clausen PP: Antikeratin antibodies in routine diagnostic pathology. A comparison of 10 different commercial antikeratins. *APMIS*. 1988; 96:1009-22.
9. Cosgrove M, Fitzgibbons PL, Sherrod A, Chandrasoma PT, Martin SE: Intermediate filament expression in astrocytic neoplasms. *Am J Surg Pathol*. 1989; 13:141-5.
10. Heatley MK: Cytokeratins and cytokeratin staining in diagnostic histopathology. *Histopathology*. 1996; 28: 479-83.
11. Hesse M, Magin TM, Weber K: Genes for intermediate filament proteins and the draft sequence of the human genome: novel keratin genes and a surprisingly high number of pseudogenes related to keratin genes 8 and 18. *J Cell Sci*. 2001; 114: 2569-75.
12. Porter RM, Lane EB: Phenotypes, genotypes and their contribution to understanding keratin function. *Trends Genet*. 2003; 19: 278-85.
13. Chu PG, Weiss LM: Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology* 2002, 40, 403-439.