

CK-HMW (34βE12) – Citoqueratina Alto Peso Molecular

Mouse anti-human Molecular Weight Cytokeratin (HMW-CK) Monoclonal Antibody (Clone 34βE12)

Código	EP-12-51183	1ml	1:50 – 1:100	Concentrado
	EP-12-51181	0.1ml	1:50 – 1:100	Concentrado
	EP-12-51186	6ml	Diluído	Diluído

- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : 34βE12
- Isotipo Ig : Camundongo IgG1
- Imunógeno : Queratina solubilizada extraída do estrato córneo humano.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Próstata, carcinoma de células escamosas
- 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 proteínas genericamente conhecidas como filamentos intermediários medindo entre 7 e 22 nm de diâmetro (ie com tamanho entre -5 a 7 nm como actina e 22 a 25 nm como tubulina), fazem parte, juntamente com o supracitado, do citoesqueleto de vertebrados. Esta superfamília compreende seis subfamílias de moléculas com diferentes expressões teciduais. As citoqueratinas constituem dois grupos de homologia (I e II) e em humanos são codificadas por mais de 49 genes diferentes nos cromossomos 17 (I) e 12 (II). A nomenclatura inventada em 1982 por Moll e Franke atribui faixas de 1 a 8 para citoqueratinas tipo II (neutras ou básicas) e entre 9 e 21 para tipo I (ácidas). Normalmente, as ceratinas são montadas em heterodímeros I / II e são co-expressas em pares específicos para cada tecido. Este anticorpo reconhece queratinas de 68, 58, 56,5 e 50 kD obtidas a partir do estrato córneo da pele. Por imuno-histoquímica, o anticorpo reage com epitélio escamoso, epitelial ductal e outra estrutura semelhante. Este anticorpo é utilizado para confirmar vários tipos de tumores como mama, pâncreas, ducto biliar, glândula salivar, próstata e carcinomas de células transicionais. É freqüentemente usado para destacar a camada basal do epitélio da próstata e, conseqüentemente, para identificar lesões infiltrativas, enquanto na mama é um marcador útil na identificação de displasias intraductais e, juntamente com outro marcador, diagnostica o carcinoma lobular infiltrante.

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 (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 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.O'Malley F P,Grignon D J and Shum D T.Usefulness of immunoperoxidase staining with high-molecular-weight cytokeratin in the differential diagnosis of small-acinar lesions of the prostate gland.Virchows Archiv.(A)Pathological Anatomy and Histopathology.417 :191-196 (1990).
- 2.Gown A M and Vogel A M.Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins.III.Analysis of tumors.American Journal of Clinical Pathology.84(4):413-424 (1985).
- 3.Gown A M and Vogel A M.Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins.II.Distribution of filament proteins in normal human tissues.American Journal of Pathology.114(2):309-321 (1984).
- 4.Gown A M and Vogel A M.Monoclonal antibodies to intermediate filament proteins of human cells:unique and cross-reacting antibodies. The Journal of Cell Biology.95 :414-424 (1982).