

## Citoqueratina 7 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (OV-TL 12/30)

Mouse anti human Keratin 7 Monoclonal Antibody (Clone OV-TL 12/30)

Código	EP-12-51223	1ml	Concentrado
	EP-12-51221	0,1ml	Concentrado
	EP-12-51224	1ml	Pronto para uso
	EP-12-51226	6ml	Pronto para uso

- Diluição recomendada : 1:50
- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : OV-TL 12/30
- Isotipo Ig : Camundongo IgG1/kappa
- Imunógeno : Linhagem celular de carcinoma ovariano OTN II.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Fígado Normal, Mama, Ovário
- Marcação : Citoplasma e membrana

### 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 monoclonal reage especificamente com a citoqueratina 7.

As citoqueratinas constituem os grupos de homologia I e II e em humanos estão codificadas em mais de 49 genes diferentes nos cromossomos 17 (I) e 12 (II). A nomenclatura implementada em 1982 por Moll e Franke atribui as gamas de 1 a 8 para citoqueratinas tipo II (neutras ou básicas) e entre 9 e 21 para tipo I (ácidas). Atualmente, foi definida uma nomenclatura análoga para designar as queratinas de pelo com a adição de letras Ha e Hb para separar as do grupo I das do grupo II. Estruturalmente, as citoqueratinas compartilham com o resto dos filamentos intermediários, um eixo central de 310 aminoácidos constituídos por quatro domínios  $\alpha$ -helicoidais altamente conservados (1A, 1B, 2A e 2B) que definem o tipo de filamento intermediário que se constituirá após a montagem, separado por três regiões não-helicoidais de união (L1, L12 e L2) e dois domínios extremos muito diferentes em tamanho e sequência (cabeça-1 e cauda-2-), cada um com regiões constantes (E1 / E2), variáveis (V1 / V2) e homologia (H1 / H2), sendo estes últimos próprios de queratinas do tipo II e ausentes nas do tipo I. Nos domínios variáveis, estão as maiores propriedades imunogênicas e as principais diferenças entre cada classe de queratina.

### 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 horizontal, 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](http://www.grupoerviegas.com.br).

#### **Referências Bibliográficas**

1. Moll R, Franke W W, Schiller D L, et al. The catalog of human cytokeratins: Patterns of expression in normal epithelia, tumors .31:1124(1982).
2. Osborn M, van Lessen G, Weber K, et al. Differential diagnosis of gastrointestinal carcinomas by using monoclonal antibodies specific for individual keratin polypeptides. Laboratory Investigation. 55 (4): 497-504(1986).
3. Ramaekers F, Huysmans A, Schaart G, et al. Tissue distribution of keratin 7 as monitored by a monoclonal antibody. Experimental Cell Research. 170: 235-249 (1987).
4. Markey A C, Lane E B, MacDonald D M, et al. Keratin expression in basal cell carcinomas. British Journal of Dermatology. 126: 154-160 (1992).
5. van de Molengraft F J J M, van Niekerk C C, Jap P H K, et al. OVTL 12/30 (keratin 7 antibody) is a marker of glandular differentiation in lung cancer. Histopathology. 22: 35-38 (1993).
6. Torenbeek R, Lagendijk J H, Van Diest P J, et al. Value of a panel of antibodies to identify the primary origin of adenocarcinomas presenting as bladder carcinoma. Histopathology. 32: 20-27 (1998).