

MUCINA 5AC – Anticorpo Monoclonal anti-humano – MD-19 também conhecido como MRQ-19

Mouse anti-human Mucin 5AC (MUCINA5AC) Monoclonal Antibody - (MD-19 also known as MRQ-19)

Código	EP-12-52103	1ml	Concentrado
	EP-12-52101	0.1ml	Concentrado
	EP-12-52104	1ml	Pronto para uso
	EP-12-52106	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 : MD-19 também conhecido como MRQ-19
- Isotipo Ig : IgG1
- Imunógeno : -
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Estômago
- 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:

Mucinas são glicoproteínas de alto peso molecular ligadas a oligossacarídeos nos resíduos de treonina ou serina por ligações glicosídicas produzidas por diferentes células epiteliais. Em humanos, pelo menos 14 genes que codificam mucinas foram identificados (MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC6, MUC7, MUC8, MUC9, MUC11, MUC12, MUC13 e MUC16). As mucinas são classificadas da seguinte forma: Mucinas ligadas à membrana (MUC1, MUC3, MUC4, MUC12 e MUC16), mucinas secretadas formando secreção semelhante a gel (MUC2, MUC5AC, MUC5B e MUC6) e mucina secretada solúvel (MUC7). As mucinas são o principal componente da membrana mucosa que protege a mucosa gástrica dos insultos químicos e mecânicos. Este anticorpo reage com a mucina 5AC. MUC5AC é a glicoproteína segregada formando secreções semelhantes a gel expressas pelo epitélio gástrico e pelo trato respiratório. A distribuição da expressão das mucinas é heterogênea MUC1 (estômago e pâncreas), MUC2 (intestino delgado e grosso), MUC4 (estômago), MUC5AC (estômago) e MUC6 (estômago, intestino delgado e pâncreas). O MUC5AC é expresso em borda apical em células normais e também nas bordas laterais da membrana citoplasmática e aliado intracitoplasmático em carcinomas de diferentes tecidos. O MUC5AC é expresso no epitélio gástrico normal na cárdia, fundo e antro pilórico. O esôfago de Barrett mostra positividade para essa mucina; MUC5AC não é expresso no intestino delgado, no intestino grosso nem no pâncreas. Nos tecidos neoplásicos, é expresso em adenocarcinomas pancreáticos, do cólon e do apêndice, doença de Paget extramamária Carcinomas coloides de a mama e os colangiocarcinomas em geral não expressam MUC5AC. O padrão de expressão de mucina nos tumores tem sido associado à localização do tumor, ao insulto biológico e à capacidade de infiltração de algumas neoplasias.

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 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 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. Lehmann JM, Riethmuller G, Johnson, J P. MUC18, a marker of tumor progression in human melanoma, shows sequence similarity to the neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. Proc. Natl. Acad. Sci. USA; 86: 9891–9895. 1989.
2. Moniaux N, Escande F, Porchet N, Aubert J P, Batra S K, Structural organization and classification of the human mucin genes. Front. Biosci; 6: D1192-D1206. 2001.
3. Chen Y, Zhao Y H, Kalaslavadi T B, Hamati E. et al., Genome-wide search and identification of a novel gel-forming mucin MUC19/Muc19 in glandular tissues. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol; 30: 155-165. 2004.
4. Higuchi T, Orita T, Nakanishi S, Katsuya K. et al., Molecular cloning, genomic structure, and expression analysis of MUC20, a novel mucin protein, up-regulated in injured kidney. J. Biol. Chem; 279: 1968–1979. 2004.
5. Hollingsworth, M. A., Swanson, B. J., Mucins in cancer: Protection and control of the cell surfaces. Nat. Rev. Cancer; 4 : 45–60. 2004.
6. Chaves P, Cruz C, DiasPereira A, Suspiro A, de Almeida JC, Leitao CN, Soares J. Gastric and intestinal differentiation in Barrett's metaplasia and associated adenocarcinoma. Dis Esophagus; 18(6): 383-387. 2005.
7. O'Connell FP, Wang HH, Odze RD. Utility of immunohistochemistry in distinguishing primary adenocarcinomas from metastatic breast carcinomas in the gastrointestinal tract. Arch Pathol Lab Med; 129(3): 338-347. 2005.
8. Leteurtre E, Zerimech F, Piessen G, Wacrenier A, Leroy X, Copin MC, Mariette C, Aubert JP, Porchet N, Buisine MP. Relationships between mucinous gastric carcinoma, MUC2 expression and survival. World J Gastroenterol; 12(21): 3324-3331. 2006.
9. Mino-Kenudson M, Tomita S, Lauwers GY. Mucin expression in reactive gastropathy: an immunohistochemical analysis. Arch Pathol Lab Med; 131(1): 86-90. 2007.
10. Mizoshita T, Tsukamoto T, Inada KI, Hirano N, Tajika M, Nakamura T, Ban H, Tatematsu M. Loss of MUC2 expression correlates with progression along the adenoma-carcinoma sequence pathway as well as de novo carcinogenesis in the colon. Histol Histopathol; 22 (3): 251-260. 2007.