

CK-HMW (34βE12) – Anticorpo Policlonal anti-humano – 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 Imunohistoquímica (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, diagnóstica 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 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. Estes incluem, mas não estão limitados a: fixação, método de recuperação com calor, tempos de incubação, espessura do corte do tecido e kit de detecção usado. Devido a sensibilidade superior destes reagentes únicos, a recomendação dos tempos de incubação e títulos enumerados não são aplicáveis para outros sistemas de detecção, pois os resultados podem variar. As recomendações da bula e protocolos estão baseados com o uso exclusivo dos produtos EasyPath. É de responsabilidade do pesquisador determinar as condições ideais.

Protocolo:

- 1 - Desparafinização - Estufa 60-65 °C por 1 hora, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada
- 2 - Recuperação antigênica - Colocar 600ml de água destilada na panela elétrica (Muscae Plus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath), tampar a panela e deixar 10 minutos em 110°C, conforme pré-programado, esfriar em temperatura ambiente por 20 minutos no próprio tampão.
- 3 - Bloqueador de Peroxidase (Recomendado EP-11-20521/2/3 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 4 - Bloqueador de Proteína (Recomendado EP-12-20531/2/3 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 5 - Anticorpo primário por 30 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 6 - Sistema de Detecção (Recomendado EP-12-20501/2/3/4/5/6 - EasyLink One EasyPath) por 30 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 7 - DAB (Recomendado EP-12-20541/2/3/5 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath), depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 8 - Hematoxilina (Recomendado EP-11-20571/3 - EasyPath) por 1 minuto e lavar em água corrente por 1 minuto.
- 9 - Bateria de álcool e xilol
- 10 - 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 coloração horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05021.

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 maiores 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).