

Monoclonal Mouse
Anti-Human Calretinin
Clone DAK Calret 1
Codice n. M 7245
Versione 20.01.03

Uso previsto	Per uso diagnostico in vitro. Monoclonal Mouse Anti-Human Calretinin, Clone DAK Caret 1, viene utilizzato nelle indagini di immunocitochimica. La calretinina è espressa da cellule mesoteliali normali e neoplastiche ed è un utile marker per individuare i mesoteliomi maligni di tipo epiteliale e per la differenziazione di questi tumori maligni dalle metastasi dell'adenocarcinoma polmonare (1-3). L'identificazione differenziale si avvale dei risultati ottenuti da un insieme di anticorpi. I dati devono essere interpretati da un patologo qualificato nell'ambito dell'anamnesi clinica del paziente e di altri test diagnostici.
Introduzione	La calretinina, identificata mediante clonazione del cDNA di retina di pollo, appartiene alla superfamiglia di proteine leganti il calcio (CaBP), che comprende anche calbindina, parvalbumina e calmodulina. Questa famiglia è caratterizzata da una sequenza aminoacidica ripiegata in un motivo strutturale elica-ripiegamento-elica che costituisce il dominio legante il calcio (motivi EF-hand) (4). Nell'uomo, la massa molecolare della calretinina è di 32 kDa e la proteina contiene cinque siti leganti il Ca ²⁺ (5). La calretinina è abbondantemente espressa nei tessuti nervosi periferici e centrali, in particolare nella retina e nei neuroni delle vie sensitive (5), tanto da ipotizzare che possa avere un ruolo importante nella sopravvivenza delle cellule nervose nei disturbi dell'omeostasi del calcio, grazie alla sua capacità tampone (6). La scoperta della calretinina nelle cellule producenti androgeni ha indotto a ritenere che l'espressione della proteina possa essere in relazione con la secrezione di steroidi (7).
Reagente fornito	Anticorpo monoclonale murino fornito in forma liquida come supernatante di coltura cellulare, dialisato contro 0,05 mol/L di tris/HCl, pH 7,2, contenente 15 mmol/L di NaN ₃ . <u>Clone:</u> DAK Calret 1. <u>Isotipo:</u> IgG1, kappa. <u>Concentrazione di IgG murine:</u> vedi etichetta sulla fiala.
Immunogeno	Partendo dalla linea cellulare del mesotelioma maligno umano, Mero-41 (8, 9), il gene codificante la calretinina è stato amplificato mediante PCR e quindi espresso come proteina ricombinante in <i>E. coli</i> . La proteina purificata è stata usata per l'immunizzazione.
Specificità	In immunocitochimica, l'anticorpo marca specificamente la calretinina.
Precauzioni	1. Per operatori specializzati. 2. Questo prodotto contiene sodio azide (NaN ₃), sostanza chimica altamente tossica allo stato puro. Alle concentrazioni indicate, il prodotto non è classificato come pericoloso, ma la sodio azide potrebbe reagire con le tubature in piombo e rame formando azidi metalliche altamente esplosive. Per lo smaltimento del prodotto è consigliabile sciacquare abbondantemente per prevenire la formazione di azidi metalliche nelle tubature. 3. Come per ogni prodotto di derivazione biologica, utilizzare procedure di manipolazione adeguate.
Conservazione	Conservare a 2-8 °C. Non utilizzare dopo la data di scadenza stampata sulla fiala. Se i reagenti sono custoditi con modalità diverse da quelle specificate, verificarne lo stato di conservazione. Non vi sono segni evidenti che indichino l'instabilità del prodotto. Pertanto, i controlli positivi e negativi devono essere condotti simultaneamente ai campioni del paziente. Contattare il nostro Servizio Tecnico se si osserva una colorazione inattesa non imputabile a modifiche delle procedure di laboratorio e si sospetta un problema dovuto all'anticorpo.
Preparazione dei campioni	<u>Sezioni in paraffina:</u> L'anticorpo può essere usato per marcare sezioni di tessuto incluse in paraffina e fissate con formalina. Si raccomanda il pretrattamento dei tessuti con proteinasi K o smascheramento termoindotto dell'epitopo. Per lo smascheramento termoindotto dell'epitopo, risultati ottimali si ottengono con la soluzione di riconoscimento bersaglio Dako, a pH elevato, codice n. S 3308, o 10 mmol/L di tampone tris, 1 mmol/L di EDTA, pH 9,0. Risultati meno ottimali si ottengono con Dako Target Retrieval Solution, codice n. S 1700, o 10 mmol/L di tampone citrato, pH 6,0. Le sezioni di tessuto non devono andare a secchezza durante il trattamento, né durante la successiva procedura di colorazione immunocitochimica.
Procedura di colorazione	<u>Diluizione:</u> In sezioni di mesoteliomi, incluse in paraffina, fissate con formalina, l'anticorpo monoclonale murino anti-calretinina uman Monoclonal Mouse Anti-Human Calretinin a, codice n. M 7245, può essere usato in un rapporto di diluizione da 1:50 a 1:100, utilizzando smascheramento termoindotto dell'epitopo per 20 minuti in 10 mmol/l di tampone tris, 1 mmol/l di EDTA, pH 9,0, e incubando per 30 minuti a temperatura ambiente in anticorpo primario. Le condizioni ottimali possono variare in funzione del campione e del metodo di preparazione e devono essere determinate dai singoli laboratori. Come controllo negativo si raccomanda di utilizzare IgG1 murine Dako, codice N. X 0931, diluite alla stessa concentrazione di IgG murine dell'anticorpo primario. Se non è stato possibile accertare la stabilità dell'anticorpo diluito e del controllo negativo durante la procedura di colorazione, si raccomanda di diluire i reagenti immediatamente prima dell'uso o diluire con Dako

Antibody Diluent, codice n. S 0809. I controlli positivi e negativi devono essere condotti simultaneamente ai campioni del paziente.

Visualizzazione: Si raccomanda di usare il kit DAKO LSAB™+/HRP, codice n. K 0679, e i kit DAKO EnVision™+/HRP, codici n. K 4004 e K 4006. Attenersi alla procedura prevista per il kit di visualizzazione prescelto.

Procedura automatizzata: L'anticorpo è ideale per la colorazione immunocitochimica utilizzando piattaforme automatizzate, come l'Autostainer Dako.

Caratteristiche specifiche di performance

Le cellule marcate dall'anticorpo evidenziano un pattern di colorazione sia citoplasmatico che nucleare.

Tessuti normali: L'anticorpo marca le cellule mesoteliali normali, i neuroni e le cellule reticolari nel colon. In altri tessuti normali di epitelio squamoso semplice, rene, fegato, pancreas, prostata e tonsille, dopo l'esame non è stata riscontrata colorazione.

Tessuti anomali: L'anticorpo marca il mesotelioma, mentre risultano negativi l'adenocarcinoma del polmone e del colon, il melanoma e il carcinoma della mammella e del timo.

Riferimenti bibliografici

1. Barberis MCP, Faleri M, Veronese S, Casadio C, Viale G. Calretinin. A selective marker of normal and neoplastic mesothelial cells in serous effusions. Acta Cytol 1997;41:1757-61.
2. Gotzos V, Vogt P, Celio MR. The calcium binding protein calretinin is a selective marker for malignant pleural mesotheliomas of the epithelial type. Path Res Pract. 1996;192:137-47.
3. Cury PM, Butcher DN, Fisher C, Corrin B, Nicholson AG. Value of the mesothelium-associated antibodies thrombomodulin, cytokeratin 5/6, calretinin, and CD44H in distinguishing epithelioid pleural mesothelioma from adenocarcinoma metastatic to the pleura. Mod Pathol 2000;13:107-12.
4. Rogers JH. Calretinin: a gene for a novel calcium-binding protein expressed principally in neurons. J Cell Biol 1987;105:1343-53.
5. Pochet R, Blachier F, Malaisse W, Parmentier M, Pasteels B, Pohl V, et al. Calbindin-D28 in mammalian brain, retina, and endocrine pancreas: immunohistochemical comparison with calretinin. Adv Exp Med Biol 1989;255:435-43.
6. Lukas W, Jones KA. Cortical neurons containing calretinin are selectively resistant to calcium overload and excitotoxicity in vitro. Neuroscience 1994;61:307-16.
7. Bertschy S, Genton CY, Gotzos V. Selective immunocytochemical localisation of calretinin in the human ovary. Histochem Cell Biol 1998;109:59-66.
8. Versnel MA, Bouts MJ, Hoogsteden HC, van der Kwast TH, Delahaye M, Hagemeyer A. Establishment of human malignant mesothelioma cell lines. Int J Cancer 1989;44:256-60.
9. Versnel MA, Hoogsteden HC, Hagemeyer A, Bouts MJ, van der Kwast TH, Delahaye M, et al. Characterization of three human malignant mesothelioma cell lines. Cancer Genet Cytogenet 1989;42:115-28.

Legenda dei simboli

 REF	Numero di catalogo	 2°C - 8°C	Limiti di temperatura		Fabbricante
 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	 LOT	Codice del lotto		
	Consultare le istruzioni per l'uso		Utilizzare entro		