

CEA-Nachweis hochspezifisch – Der neue CEA-Marker

Der neue anti-CEA Antikörper CI-P83-1

- ergibt brillante Färbungen CEA-positiver normaler und neoplastischer humaner Epithelien
- erkennt ein für CEA hochspezifisches Epitop der Gruppe III
- zeigt keine Kreuzreaktionen mit NCA (CD66c), BGP (CD66a) und Granulozyten
- ist an routinemäßig präparierten Gefrier- und Paraffinschnitten ohne Vorbehandlung einsetzbar
- eignet sich für den CEA-Nachweis in Immunhistochemie, Immunfluoreszenz, Immunpräzipitation, Western Blot und Durchflusszytometrie

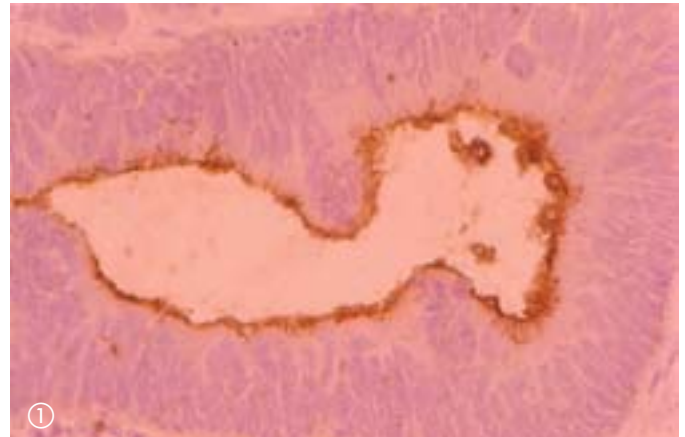


Abb. 1: **Immunhistochemische Färbung von Kolonepithel.** Gefrierschnitte von hochdifferenziertem Kolonkarzinomgewebe mit anti-CEA Antikörper CI-P83-1 (dia 800) und anti-Maus HRPO, Farbstoff DAB.

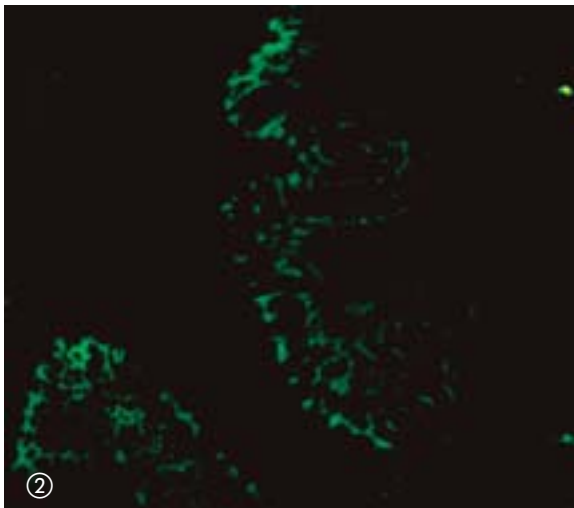


Abb. 2: **Immunfluoreszenz-Färbung von Kolonepithel.** Gefrierschnitte von normalem humanen Kolongewebe: Abb. 2 mit anti-CEA Antikörper CI-P83-1 FITC (dia 820).

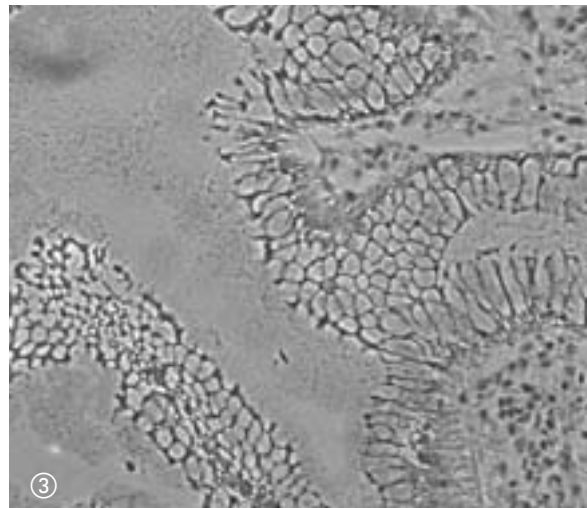


Abb. 3 Hellfeldaufnahme des Bereiches Abb. 2.



Abb. 4: **Western Blot-Nachweis von CEA.** 50 µg Tumorzellysat nach SDS-PAGE und Western Blot mit anti-CEA Antikörper CI-P83-1 (dia 800) und anti-Maus HRPO, ECL.



HIGH INNOVATION VON DIANOVA

Der Antikörper CI-P83-1

Der Antikörper CI-P83-1 reagiert spezifisch mit humanem Carzinoembryonalen Antigen (CEA, CD66e), einem 180-200 kD großen, GPI-verankerten Zelloberflächenprotein auf Epithelzellen. Es gehört zur CEA-Untergruppe 7 nahe verwandter Moleküle (CD66a-e, CGM2, CGM7) aus der CEA-Gen Familie (CGM = Carcinoembryonic Antigen Gene Family Member), einer Unterfamilie der Immunglobulin-Superfamilie von Glykoproteinen. CEA besitzt eine N-terminale IgV-ähnliche Domäne und 6 IgC₂-ähnliche Domänen. Alle CGMs sind stark glykosyliert. Das Translationsprodukt von CEA hat eine Größe von 70 kD, nach der Glykosylierung liegt das Molekulargewicht bei ca. 180 kD (1).

Bezüglich der Antigen-Bindung werden monoklonale Antikörper gegen CEA in fünf voneinander unabhängige Epitop-Gruppen (GOLD 1 - 5) eingeteilt (2). Klon CI-P83-1 erkennt ein für CEA hochspezifisches GOLD 3 Epitop, zeigt keine Kreuzreaktionen mit NCA (Non-specific Cross-reacting Antigen, CD66c), BGP (Biliary Glycoprotein, CD66a) und ist negativ auf Granulozyten (4). Klon CI-P83-1 eignet sich besonders für Immunfluoreszenz- und immunhistochemische Untersuchungen (hier insbesondere die FITC- und HRPO-Direktkonjugate), sowie Western Blot Analysen und Immunpräzipitationen. Somit stellt er ein ideales, hochspezifisches Reagenz für alle Antikörper-basierenden Detektionsverfahren dar.

Moleküle der CEA-Familie spielen eine funktionelle Rolle bei Zelladhäsionsmechanismen von Tumorzellen, aber auch bei Immunzellen, bei Signaltransduktionsprozessen sowie bei der angeborenen Immunabwehr zum Schutz des Kolons oder anderer Regionen wie dem oberen Speisetrakt, der Harnblase oder Haut (Schweißdrüsen) vor bakteriellen Angriffen (1).

CEA wird auf normalen und neoplastischen Epithelzellen exprimiert. In normalem Kolongewebe wird CEA ausschließlich an der apikalen Membran der einschichtigen Epithelzellen exprimiert und in das Darmlumen entlassen. Es besteht kein Kontakt zu Blutkapillaren. Im mehrschichtigen Tumorgewebe dagegen sind die Zellen unipolar und entlassen CEA an der gesamten Zelloberfläche. CEA kann so auch im Inneren des Tumorgewebes nachgewiesen werden und in Blut und Lymphe eintreten (1).

In Tumoren wird CEA bei verschiedenen Karzinomen (Darm, Pankreas, Brust, Lunge, Magen, Gallenblase, Harnblase, Ovarien) hoch exprimiert und als Serumentumormarker klinisch vor allem im postoperativen Verlauf untersucht. Es treten allerdings erhöhte Serum- und Gewebewerte für CEA auch bei einigen nicht-malignen Erkrankungen auf (1,3).

Literatur:

- Hammarstrom S. The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. Review. *Semin Cancer Biol* 9(2):67-81, 1999.
- Hammarstrom S, Shively JE, Paxton RJ, Beatty BG, Larsson A, Ghosh R, Borner O, Buchegger F, Mach JP, Burtin P, et al. Antigenic sites in carcinoembryonic antigen. *Cancer Res* 49(17):4852-8, 1989.
- Hörig H, Medina FA, Konkright WA, Kaufmann HL. Strategies for Cancer therapy using Carcinoembryonic antigen vaccines. *Exp Rev Mol Med* 19, 2000. <http://www-ermm.cbccu.cam.ac.uk/0000168Xh.htm>.
- Nap M, Hammarstrom ML, Borner O, Hammarstrom S, Wagener C, Handt S, Schreyer M, Mach JP, Buchegger F, von Kleist S, et al. Specificity and affinity of monoclonal antibodies against carcinoembryonic antigen. *Cancer Res* 15;52(8):2329-39, 1992.

Protokoll:

■ Immunhistochemie (Abb. 1):

- Gefrierschnitte 10 min mit Aceton fixieren, formalinfixierte Paraffinschnitte nach Entparaffinierung und Rehydratisierung nur optional in Citratpuffer (pH 6,0) vorbehandeln; 10 min 95°C
- Waschen der Schnitte in PBS; 3 x 5 min
- Blockierung der endogenen Peroxidase mit H₂O₂-Lösung (z.B. TA-125-HP)
- Waschen der Schnitte in PBS; 2 x 5 min
- Blockierung von unspezifischen Bindungen des Gewebes mit 2% Normals Serum in PBS; 15 min RT
- Inkubation mit 1 µg/ml anti-CEA Antikörper CI-P83-1 (dia 800) in PBS/1% BSA; 30 min RT
- Waschen der Schnitte in PBS; 3 x 5 min
- Inkubation mit HRPO-konjugiertem anti-Maus Sekundärintikörper in PBS/1% BSA (z.B. 115-035-062, 115-036-062, 1:500 – 1:5000); 60 min RT
- Waschen der Schnitte in PBS; 3 x 5 min
- Farbentwicklung mit DAB-Substratlösung (z.B. TA-125-HD)
- Gegenfärbung mit Hämalaun; 2 min RT

■ Immunfluoreszenz (Abb. 2, Abb. 3):

- 3. wie 1., 2., 5. Immunhistochemie
- Inkubation mit FITC-konjugiertem anti-CEA Antikörper CI-P83-1 (dia 820) in PBS/1% BSA (1:20 – 1:50); 60 min RT
- Waschen der Schnitte in PBS; 3 x 5 min

■ Western Blot (Abb. 4):

- Material: gereinigtes humanes CEA oder 50 µl Zellysat (10⁷ Zellen/3ml Lysepuffer: PBS/0,3% Chaps, 0,2% TritonX-100)
- Acetonpräzipitation der Proben
- Erhitzen in 20 µl 2 x konz. Lämmli-puffer; 5 min 95°C
- SDS-PAGE in 4% - 20%igem Gradientengel
- Probentransfer auf eine PVDF-Membran
- Blockierung der PVDF-Membran mit PBS/0,1% Tween, 25% w/v Magermilchpulver; 30 min RT
- Inkubation mit 5 - 10 µg/ml Antikörper CI-P83-1 (dia 800) in Blockierungspuffer; über Nacht bei 4°C
- Waschen des Blots in Blockierungspuffer; 3 x 10 min
- Inkubation mit HRPO-konjugiertem anti-Maus Sekundärintikörper in Blockierungspuffer (z.B. 115-035-062, 1:10.000 – 1:200.000); 60 min RT, Schüttler
- Waschen des Blots in PBS/0,1% Tween; 3 x 10 min
- Nachweis der Positiv-Bande mit ECL-Substrat

Produktinformationen:

Klon:	CI-P83-1
Isotyp:	Maus IgG1, kappa
Spezifität:	Humanes Carzinoembryonales Antigen (CEA, CD66e), Epitop-Gruppe III, keine Kreuzreaktionen mit NCA (CD66c), BGP (CD66a) und Granulozyten
Immunogen:	Pankreaskarzinom-Zelllinie Capan 1
Speziesreaktivität:	Human

Anwendungen: Gefrierschnitte, Paraffinschnitte, Immunhistochemie, Immunfluoreszenz, Durchflusszytometrie, Immunpräzipitation, Western Blot

Katalog-Nr.	Konjugation	Menge
dia 800	unkonjugiert	200 µg (1mg/ml)
dia 820	FITC	0,5 ml (ca. 500 Schnitte)
dia 840	HRPO	0,5 ml (ca. 500 Schnitte)

Beratung und Vertrieb:

Mittelweg 176 · 20148 Hamburg
 Telefon (040) 45 06 70 · Telefax (040) 45 06 74 90
 e-mail: info@dianova.de · internet: www.dianova.de

dianova

Gesellschaft für biochemische, immunologische und mikrobiologische Diagnostik mbH