

CD10 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (56C6)

Mouse anti-human CD10 Monoclonal Antibody (Clone 56C6)

Código	EP-12-50403	1ml	Concentrado
	EP-12-50401	0.1ml	Concentrado
	EP-12-50406	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 : 56C6
- Isotipo Ig : Camundongo IgG
- Imunógeno : Domínio externo recombinante da proteína CD10.
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Tonsila
- Marcação : Membranas

Aplicações conhecidas

Em Imuno-histoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina. Não testado em tecidos congelados e técnicas de western-blotting.

Especificações:

O CD10, também conhecido como Antígeno de Leucemia Linfocítica Aguda Comum (CALLA), é uma enzima da superfície celular com atividade de metaloendopeptidase neutra que inativa uma variedade de peptídeos biologicamente ativos. O CD10 é expresso nas células dos linfomas do centro germinativo linfoblástico, de Burkitt e folicular e nas células de pacientes com leucemia mielocítica crônica (CML). Também é expresso na superfície de células progenitoras linfoides precoces normais, células B imaturas dentro da medula óssea adulta e células B do centro germinativo dentro do tecido linfóide. O CD10 também está presente nas células mioepiteliais da mama, canalículos biliares, fibroblastos, com expressão especialmente alta na borda em escova das células epiteliais renais e intestinais.

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 IHC e interpretação do resultado de coloração. A utilização em tecido congelado não foi validado.

Protocolo:

- 1 - Desparafinação - 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 (MuscaePlus / 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 desparafinar, 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 MuscaePlus (EasyPath) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.

Dois séries de solventes, conforme metodologia de cada kit:

- DESCENDENTE: para desparafinar 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.

Referências Bibliográficas

1. Haralambidou S, Melo J V and Catovsky D. Different reactivity of monoclonal antibodies against common acute lymphoblastic leukaemia antigen (CD10). *Journal of Clinical Pathology*. 40 :490-493 (1987).
2. Mechtersheimer G and Möller P. Expression of the common acute lymphoblastic leukemia antigen (CD10) in mesenchymal tumors. *American Journal of Pathology*. 134(5):961-965 (1989).
3. Kiyokawa N, Kokas Y, Ishimoto K, et al. Characterization of the common acute lymphoblastic leukaemia antigen (CD10) as an activation molecule on mature human B cells. *Clinical Experimental Immunology*. 79 :322-327 (1990).
4. Carrel S, Zografos L, Schreyer M, et al. Expression of CALLA/CD10 on human melanoma cells. *Melanoma Research*. 3 :319-323 (1993).
5. Scheueramann R H and Racila E. CD19 antigen in leukemia and lymphoma diagnosis and immunotherapy. *Leukemia and Lymphoma*. 18 :385-397 (1995).
6. Diaz de Leon E, Alkan S, Huang J C, et al. Usefulness of an immunohistochemical panel in paraffin-embedded tissues for the differentiation of B-cell non-Hodgkin's lymphomas of small lymphocytes. *Modern Pathology*. 11(11):1046-1051 (1998).
7. McIntosh G G, Lodge A J, Watson P, et al. NCL-CD10270: a new monoclonal antibody recognizing CD10 in paraffin-embedded tissue. *American Journal of Pathology*. 154(1):77-82 (1999).
8. Takaki Y, Iwata N, Tsubuki S, et al. Biochemical identification of the neutral endopeptidase family member responsible for the catabolism of amyloid β peptide in the brain. *Journal of Biochemistry*. 128 :897-902 (2000).
9. Avery A K, Beckstead J, Renshaw A A, et al. Use of antibodies to RCC and CD10 in the differential diagnosis of renal neoplasms. *The American Journal of Surgical Pathology*. 24 (2):203-210 (2000).
10. Xiao S-Y, Wang H L, Hart J, et al. cDNA arrays and immunohistochemistry identification of CD10/CALLA expression in hepatocellular carcinoma. *American Journal of Pathology*. 159 (4):1415-1421 (2001).
11. Tajima Y, Nakanishi Y, Yoshino T, et al. Clinicopathological study of early adenocarcinoma of the gastric cardia: comparison with early adenocarcinoma of the distal stomach and esophagus. *Oncology*. 61 :1-9 (2001).
12. Ohshima K, Kawasaki C, Muta H, et al. CD10 and Bcl10 expression in diffuse large B-cell lymphoma: CD10 is a marker of improved prognosis. *Histopathology*. 39 :156-162 (2001).
13. McCluggage W G, Sumathi V P and Maxwell P. CD10 is a sensitive and diagnostically useful immunohistochemical marker of normal endometrial stroma and of endometrial stromal neoplasms. *Histopathology*. 39 :273-278 (2001).