

## CD30 - Anticorpo Monocloal anti-humano - Clone (Ber-H2)

Mouse anti-human CD30 Monoclonal Antibody (Clone Ber-H2)

Códigos	EP-12-50613	1ml	1:100	Concentrado
•	Diluição recomendada	:	1:50	
•	Validade e lote do produto	:	Ver frasco	
•	Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)	
•	Clone	:	Ber-H2	
•	Isotipo Ig	:	Camundongo IgG1/K	
•	Imunógeno	:	Células CO	
•	Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)	
•	Controle positivo	:	Linfoma de Hodgkin, amígdala	
•	Marcação	:	Membrana 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:

O antígeno CD30 (também chamado Ki-1) é uma glicoproteína de cadeia única que pertence à família dos fatores receptores de necrose tumoral (TNF) e atua como um receptor transmembrana tipo 1. O gene que codifica o CD30 foi mapeado no cromossomo 1p36. A glicoproteína CD30 é sintetizada como um precursor de 90 kDa que é transformado no complexo de Golgi numa glicoproteína fosforilada madura de 105/120 kDa que se liga à membrana celular. Em tecidos normais, a expressão de CD30 é restrita a alguns imunoblastos (B e T) localizados ao redor de folículos linfóides de tecido linfóide estimulado antígenoicamente, células acinares do pâncreas e durante a gestação, por algumas células decíduais. Em neoplasias, o antígeno CD30 é expresso em tumores anaplásicos, como as células monobi- e multinucleadas das células da doença de Hodgkin e a grande maioria do linfoma anaplásico de grandes células, faltando um terço da imunocoloração CD45. O antígeno CD30 é também expresso em algumas malignidades não hematopoiéticas, tais como carcinomas embrionários e raramente em tumores pouco diferenciados de origem epitelial ou melanócitos. Por essa razão e para diagnóstico in vitro, o anticorpo CD30 deve ser usado como parte de um amplo painel de anticorpos que descarta a possibilidade de origem não linfóide para tumores positivos.

### 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 - 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 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](http://www.grupoerviegas.com.br).

### Referências Bibliográficas

1. Schwab U, Stein H, Gerdes J, Lemke H, Kirchner HH, Schaadt M, Diehl V: Production of a monoclonal antibody specific for Hodgkin and Sternberg-Reed cells of Hodgkin's disease and a subset of normal lymphoid cells. *Nature* 1982; 299: 65-67.
2. Stein H, Mason DY, Gerdes J, O'Connor N, Wainscoat J, Pallesen G, Gatter K, Falini B, Delsol G, Lemke H, Schwarting R, Lennert K: The expression of the Hodgkin's disease associated antigen Ki-1 in reactive and neoplastic lymphoid tissue: evidence that Reed-Sternberg cells and histiocytic malignancies are derived from activated lymphoid cells. *Blood* 1985; 66: 848-858
3. Pallesen G, Hamilton-Dutoit SJ: Ki-1 (CD30) antigen is regularly expressed by tumor cells of embryonal carcinoma. *Am. J. Pathol.* 1988; 133: 446-450.
4. Schwarting R, Gerdes J, Durkop H, Falini B, Pileri S, Stein H: BER-H2: a new anti-Ki-1 (CD30) monoclonal antibody directed at a formol-resistant epitope. *Blood.* 1989; 74:1678-89.
5. Dürkop H, Latza U, Hummel M, Eitelbach F, Seed B, Stein H: Molecular cloning and expression of a new member of the nerve growth factor receptor family that is characteristic for Hodgkin's disease. *Cell* 1992; 68: 421-427.
6. Fonatsch C, Latza U, Dürkop H, Rieder H, Stein H: Assignment of the human CD30 (Ki-1) gene to 1p36. *Genomics* 1992; 14: 825-826.
7. Smith CA, Gruss HJ, Davis T, Anderson D, Farrah T, Baker E, Sutherland GR, Brannan CI, Copeland NG, Jenkins NA, Grabstein KH, Gliniak B, McAlister IB, Fanslow W, Alderson M, Falk B, Gimpel S, Gillis S, Din WS, Goodwin RG, Armitage RJ: CD30 antigen, a marker for HL, is a receptor whose ligand defines an emerging family of cytokines with homology to TNF. *Cell* 1993; 73: 1349-1360.
8. Ito K, Watanabe T, Horie R, Shiota M, Kawamura S, Mori S: High expression of the CD30 molecule in human decidual cells. *Am. J. Pathol.* 1994; 145: 276- 280.
9. Aizawa S, Nakano H, Ishida T, Horie R, Nagai M, Ito K, Yagita H, Okumura K, Inoue J, Watanabe T: Tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF) 5 and TRAF2 are involved in CD30-mediated NF- $\kappa$ B activation. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 2042-2045.
10. Horie R, Gattei V, Ito K, Imajo-Ohmi S, Tange T, Miyauchi J, Pinto A, Degan M, De Luliis A, Tassan Mazzocco F, Rossi FM, Higashihara M, Watanabe T: Frequent expression of the variant CD30 in human malignant myeloid and lymphoid neoplasms. *Am J Pathol.* 1999; 155:2029-41.11. Turbat-Herrera EA, Veillon D, Cotelingam J, Fowler M, Herrera GA: The ultrastructural and immunohistochemical heterogeneity of CD-30- positive neoplasms: so-called anaplastic large cell Ki- 1 lymphomas. *Med Electron Microsc.* 2001; 34:19-28