

## CD33 - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (PWS44)

Mouse anti-human CD33 Monoclonal Antibody (Clone PWS44)

Código	EP-12-50633	1ml
• Diluição recomendada	:	1:10
• Validade e lote do produto	:	Ver frasco
• Temperatura de armazenamento	:	2 à 8°C (não congelar)
• Clone	:	PWS44
• Isotipo Ig	:	Camundongo IgG2b
• Imunógeno	:	Proteína recombinante procariótica
• Reatividade	:	RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
• Controle positivo	:	Medula óssea normal ou fígado. A coloração na medula óssea é altamente influenciada pelo manuseio pré-analítico da amostra.
• Marcação	:	Membrana e citoplasma 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 clone PWS44 detecta o antígeno CD33 na membrana e no citoplasma das células das linhagens mielomonocíticas. Em biópsias normais de trepina da medula óssea, o clone PWS44 cora a hematopoiese mieloide e mielomonocítica e macrófagos maduros; as células da série eritróide e megacariocítica são negativas. Alguma reatividade foi observada em citotrofoblastos e sincitiotrofoblastos da placenta. Com exceção das células dendríticas e dos macrófagos infiltrantes, nenhuma coloração foi observada em outros tecidos normais avaliados. Leucemia mieloide aguda é corada por clone PWS44, assim como leucemia mielóide crônica, sarcomas granulocíticos e casos de displasia mieloide e doenças mieloproliferativas. PWS44 casos corados de tumores não linfóides. Nas neoplasias linfóides testadas, foi observada coloração de CD33 nas leucemias linfoblásticas B precursoras, leucemias linfoblásticas T precursoras, linfomas de Hodgkin clássicos, linfomas de Burkitt, neoplasias de células plasmáticas, neoplasias linfóides hematodérmicas, linfoma de grandes células anaplásicas, linfoma linfoplasmocitário.

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



**Protocolo:**

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

#### **Referências Bibliográficas**

1. Freeman SD, Kelm, Barber EK et al. Characterisation of CD33 as a new member of the sialoadhesion family of cellular interaction molecules. *Blood* 1995; 85: 2005–2012.
2. Crocker PR, Zhang J. New I-type lectins of the CD33-related siglec subgroup identified through genomics. *Biochemistry Society Symposium* 2002; 69: 83–96.
3. Lock K, Zhang J, Lu J, Lee SH, Crocker PR. Expression of CD33-related siglecs on human mononuclear phagocytes, monocyte-derived dendritic cells and plasmacytoid dendritic cells. *Immunobiology*. 2004; 209: 199–207.
4. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardmann JW. Tumors of hematopoietic and lymphoid tissue. WHO classification of tumors. IARC Press Lyon, 2001.
5. Golan J, DiGaetano N, Amica D et al. Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®) has therapeutic activity against CD33-positive acute lymphoblastic leukemia in vitro and in vivo. *British Journal of Haematology* 2005; 128: 310–317.
6. Zwaan ChM, Reinhardt D, Jürgen H et al. Gemtuzumab ozogamicin in pediatric CD33-positive acute lymphoblastic leukemia: first clinical experiences and relation to single agent calicheamicin. *Leukemia* 2003; 468–470.
7. Bovio IM, Allan RW. The expression of myeloid antigens CD13 and/or CD33 is a marker of ALK+ anaplastic large cell lymphomas. *Am J Clin Pathol*. 2008;130: 628–634.
8. Forsyth RG, De Boeck G, Baelde JJ, Taminiau AH, Uyttendaele D, Roels H, Praet MM, Hogendoorn PC. CD33+ CD14- phenotype is characteristic of multinuclear osteoclast-like cells in giant cell tumor of bone. *J Bone Miner Res*. 2009; 24:70-77.

