

CD34 - Antígeno Nuclear de Células em Proliferação - Anticorpo Monoclonal anti-humano - Clone (QB-End/10)

Mouse anti-human CD34 (Proliferating Cell Nuclear Antigen) - Monoclonal Antibody (Clone QB-End/10)

Código	EP-12-50643	1ml	Concentrado
	EP-12-50641	0,1ml	Concentrado
	EP-12-50644	1ml	Pronto para uso
	EP-12-50646	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 : QB-End/10
- Isotipo Ig : Camundongo IgG1
- Imunógeno : Suspensão vesicular solubilizada por detergente preparada a partir de uma perfusão de placenta de termo humano.
- Reatividade : RUO - (Humanos - não testados em outras espécies)
- Controle positivo : 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 anticorpo QBEnd10 é um anticorpo monoclonal classe II que reconhece um epítipo de CD34 resistente à neuraminidase e sensível à glicoprotease e quimopapaína. O CD34, uma glicoproteína transmembranar de cadeia única, é detectado em precursores da medula óssea, incluindo precursores linfóides normais ou hematogonias, onde pode actuar como ligando de lectinas destas células com o estroma da medula óssea. A expressão de CD34 desaparece da superfície de todas as séries hematológicas durante a maturação. Os megacariócitos podem apresentar variação positiva para CD34. Este anticorpo apresenta reatividade com a maioria das células endoteliais, expressa na superfície luminal e processos de membrana interdigitantes entre as células endoteliais, mas está ausente em grandes vasos venosos e arteriais. O CD34 também está ausente nos sinusóides do baço, fígado e placenta. Os vasos linfáticos são geralmente pouco corados. O CD34 também é expresso em fibroblastos, como as células dendríticas, localizadas nos tratos portais do fígado e nas placas de Peyer e na fase de reparação da ferida. Nos tumores, o CD34 é detectado em blastos mieloides de síndromes mielodisplásicas e na maioria dos casos de leucemias mielóides agudas e linfoblastos das leucemias linfoblásticas agudas. Linfomas de células B maduras, leucemias de células B e T são todos negativos para CD34. A maioria dos tumores vasculares e sarcomas, incluindo os hemangiossarcomas de Kaposi, são positivos para CD34. O CD34 é expresso na maioria dos casos de dermatofibrossarcoma protuberans (enquanto o histiocitoma fibroso é negativo), tumor fibroso solitário, lipomas (particularmente células fusiformes) e lipossarcomas, estroma gastrointestinal (GIST) (fortemente positivo em 80% dos casos coincidindo com a expressão de CD117) e meningiomas em uma proporção variável de casos. Uma expressão moderada foi detectada em leiomiomas cutâneos e uma coloração fraca pode ser observada em tumores de músculo liso do útero ou tecido mole.

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 (Muscae Plus / EasyPath) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath) ou Diva (Biocare), 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 Muscae Plus (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 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. Dhillon AP, Sankey EA and More L. QBEND/10: A new immunostain for the routine diagnosis of Kaposi's sarcoma. *Journal of Pathology*. 162: 274. 1990.
2. Fletcher CDM and Ramani P. QBEnd/10: A useful, but by no means specific marker of Kaposi's sarcoma. *Journal of Pathology*. 162 : 273. 1990.
3. Ramani P, Bradley NJ and Fletcher C D M. QBEND/10, a new monoclonal antibody to endothelium: assessment of its diagnostic utility in paraffin sections. *Histopathology*. 17 :237-242. 1990.
4. Sankey E A, More L and Dhillon A P. QBEnd/10: A new immunostain for the routine diagnosis of Kaposi's sarcoma. *Journal of Pathology*. 161: 267-271. 1990.
5. Anthony PP and Ramani P. Endothelial markers in malignant vascular tumours of the liver: Superiority of QB-END/10 over von Willebrand factor and Ulex europaeus agglutinin 1. *Journal of Clinical Pathology*. 44 : 29-32. 1991.
6. Cox G, Walker R A, Andi A, et al. Prognostic significance of platelet and microvessel counts in operable non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 29 (3): 169 -177. 2000.
7. Watanabe T, Oda Y, Tamiya S, et al. Malignant peripheral nerve sheath tumour arising within neurofibroma. An immunohistochemical analysis in the comparison between benign and malignant components. *Journal of Clinical Pathology*; 54: 631-636. 2001.