

CD99 – Anticorpo Monoclonal anti-humano – Clone (EP8)

Rabbit anti-human CD99 Monoclonal Antibody (Clone EP8)

Código	EP-12-50903	1ml	Concentrado
	EP-12-50901	0.1ml	Concentrado
	EP-12-50904	1ml	Pronto para uso
	EP-12-50906	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 : EP8
- Isotipo Ig : Coelho IgG
- Imunógeno : Um péptido sintético correspondente a resíduos no terminal-C da proteína CD99 humana
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Pele normal ou Ewing / PNET sarcoma.
- Marcação : Citoplasma e 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 CD99 é uma glicoproteína transmembrana, também conhecida como MIC2. Está envolvida na adesão de células T, migração de leucócitos e diferenciação de células neuroectodérmicas primitivas. O CD99 rotula linfócitos, células granulosas do ovário, células das ilhotas pancreáticas, células de Sertoli, células endodérmicas do SNC e células endoteliais. O CD99 é útil no diagnóstico do sarcoma de Ewing, tumor estromal do cordão sexual ou tumor endócrino do pâncreas. Além disso, o CD99 é encontrado em um subgrupo de outros tumores, incluindo linfoma linfoblástico, carcinoma de mama e outras malignidades. Este anticorpo CD99 foi validado com excelente resultado de coloração pelo controle de qualidade imunohistoquímico nórdico (NordiQC).

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 investigador 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 - 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), 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 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.

Referências Bibliográficas

1. Lee EJ, Lee HG, Park SH, Choi EY, Park SH. CD99 type II is a determining factor for the differentiation of primitive neuroectodermal cells. *Exp Mol Med*. 2003 31;35:438-47
2. Rocchi A, Manara MC, Sciandra M, Zambelli D, Nardi F, Nicoletti G, Garofalo C, Meschini S, Astolfi A, Colombo MP, Lessnick SL, Picci P, Scotlandi K. CD99 inhibits neural differentiation of human Ewing sarcoma cells and thereby contributes to oncogenesis. *J Clin Invest*. 2010 Mar 1;120(3):668-80
3. Wick MR. Immunohistology of neuroendocrine and neuroectodermal tumors. *Semin Diagn Pathol*. 2000 Aug;17(3):194-203
4. Olsen SH, Thomas DG, Lucas DR. Cluster analysis of immunohistochemical profiles in synovial sarcoma, malignant peripheral nerve sheath tumor, and Ewing sarcoma. *Mod Pathol*. 2006 May;19(5):659-68
5. Robertson PB, Neiman RS, Worapongpaiboon S, John K, Orazi A. O13 (CD99) positivity in hematologic proliferations correlates with TdT positivity. *Mod Pathol*. 1997 Apr;10(4):277-82
6. Lucas DR, Bentley G, Dan ME, Tabaczka P, Poulik JM, Mott MP. Ewing sarcoma vs lymphoblastic lymphoma. A comparative immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol*. 2001 Jan;115(1):11-7
7. Hamilton G, Fellinger EJ, Schratter I, Fritsch A. Characterization of a human endocrine tissue and tumor-associated Ewing's sarcoma antigen. *Cancer Res*; 48: 6127-6131. 1988.
8. Weidner N, Tjoe J. Immunohistochemical profile of monoclonal antibody O13: antibody that recognizes glycoprotein p30/32MIC2 and is useful in diagnosing Ewing's sarcoma and peripheral neuroepithelioma. *Am J Surg Pathol*; 18: 486-494. 1994.
9. Hahn JH, Kim MK, Choi EY, Kim SH, Sohn HW, Ham DI, Chung DH, Kim TJ, Lee WJ, Park CK, Ree HJ, Park SH. CD99 (MIC2) regulates the LFA-1/ICAM-1-mediated adhesion of lymphocytes, and its gene encodes both positive and negative regulators of cellular adhesion. *J Immunol*; 159: 2250-2258. 1997.
10. Wacławiczek M, Majdic O, Stulnig T, Berger M, Sunder-Plassmann R, Zlabinger GJ, Baumruker T, Stockl J, Ebner C, Knapp W, Pickl WF. CD99 engagement on human peripheral blood T cells results in TCR/CD3-dependent cellular activation and allows for Th1-restricted cytokine production. *J Immunol*; 161: 4671-4678. 1998.
11. Sung CO, Young H, Ko YH, Park S, Kim K, Kim W. Immunoreactivity of CD99 in Non-Hodgkin's Lymphoma: Unexpected Frequent Expression in ALK-positive Anaplastic Large Cell Lymphoma. *J Korean Med Sci*; 20: 952-956. 2005.
12. Buxton D, Bacchi CE, Gualco G, Weiss LM, Zuppan CW, Rowsell EH, Huang Q, Wang J. Frequent expression of CD99 in anaplastic large cell lymphoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 160 cases. *Am J Clin Pathol*. 2009 Apr;131(4):574-9
13. Lee SP, Park S, Park J, Hong J, Ko YH. Clinicopathologic characteristics of CD99-positive diffuse large B-cell lymphoma. *Acta Haematol*. 2011;125(3):167-7
14. Hartel PH, Fanburg-Smith JC, Frazier AA, Galvin JR, Lichy JH, Shilo K, Franks TJ. Primary pulmonary and mediastinal synovial sarcoma: a clinicopathologic study of 60 cases and comparison with five prior series. *Mod Pathol*. 2007 Jul;20(7):760-9
15. Guo Y, Yuan F, Deng H, Wang HF, Jin XL, Xiao JC. Paranuclear dot-like immunostaining for CD99: a unique staining pattern for diagnosing solid pseudopapillary neoplasm of the pancreas. *Am J Surg Pathol*. 2011 Jun;35(6):799-806
16. Makhoul R, Schwartz AM, Williams R, Lee NH. Paranuclear dot-like immunostaining for CD99: presence in colonic adenomas and adenocarcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2011 Nov;35(11):1749-50
17. Kim HS, Kim JS, Kim JS, Park JT, Lee MC, Juhng SW, Cho JH, Park CS. The association between CD99 and LMP-1 expression in nasopharyngeal carcinoma. *Exp Oncol*. 2006 Mar;28(1):40-3
18. Vang R, Herrmann ME, Tavassoli FA. Comparative immunohistochemical analysis of granulosa and sertoli components in ovarian sex cord-stromal tumors with mixed differentiation: potential implications for derivation of sertoli differentiation in ovarian tumors. *Int J Gynecol Pathol*. 2004 Apr;23(2):151-61
19. Milanezi F, Pereira EM, Ferreira FV, Leitão D, Schmitt FC. CD99/MIC-2 surface protein expression in breast carcinomas. *Histopathology*. 2001 Dec;39(6):578-83