

## **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**

- 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 Imunohistoquímica (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 epítopo 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 mielóides 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. Estes incluem, mas não estão limitados a: fixação, método de recuperação com calor, tempos de incubação, espessura do corte do



tecido e kit de detecção usado. Devido a sensibilidade superior destes reagentes únicos, a recomendação dos tempos de incubação e títulos enumerados não são aplicáveis para outros sistemas de detecção, pois os resultados podem variar. As recomendações da bula e protocolos estão baseados com o uso exclusivo dos produtos EasyPath. É de responsabilidade do pesquisador determinar as condições ideais.

#### **Protocolo:**

- 1 - Desparafinização - Estufa 60-65°C por 1 hora, depois bateria de Xilol e diluições decrescentes de álcool e lavar em água destilada
- 2 - Recuperação antigênica - Colocar 500ml de água destilada na panela elétrica (NxGen/Biocare) e a(s) lâmina(s) no recipiente com tampão EDTA 10X pH8,5 (Recomendado EP-12-20553/6 EasyPath), tampar a panela e deixar 10 minutos em 110 C, conforme pré-programado, esfriar em temperatura ambiente por 20 minutos no próprio tampão.
- 3 - Bloqueador de Peroxidase (Recomendado EP-11-20521/2/3 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 4 - Bloqueador de Proteína (Recomendado EP-12-20531/2/3 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 5 - Anticorpo primário por 30 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 6 - Sistema de Detecção (Recomendado EP-12-20501/2/3/4/5/6 - EasyLink One EasyPath) por 30 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath) e em seguida secar a lâmina com papel macio.
- 7 - DAB (Recomendado EP-12-20541/2/3/5 - EasyPath) por 5 minutos, lavar com TBS (Recomendado EP-11-20551/2 - EasyPath), depois com lavar com água deionizada e secar a lâmina com papel macio.
- 8 - Hematoxilina (Recomendado EP-11-20571/3 - EasyPath) por 1 minuto e lavar em água corrente por 1 minuto.
- 9 - Bateria de álcool e xilol
- 10 - 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 coloração horizontal, comercializada pelo Grupo Erviegas, código EP-51-05021.  
Câmara pressurizada NxGen (Biocare) para recuperação antigênica com controle de pressão, temperatura e tempo.  
Duas 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 maiores informações sobre o produto ou detalhes sobre outras técnicas e produtos acesse nosso site [www.grupoerviegas.com.br](http://www.grupoerviegas.com.br).