

**CD138 – Anticorpo Monoclonal de Camundongo – Clone (B-A38)**

<b>Código</b>	<b>EP-12-54231</b>	<b>0.1ml</b>	<b>1:100-1:200</b>	<b>Concentrado</b>
	<b>EP-12-54236</b>	<b>6 ml</b>	<b>Diluído</b>	<b>Pronto para uso</b>

- Validade e lote do produto : Ver frasco
- Temperatura de armazenamento : 2 à 8°C (não congelar)
- Clone : B-A38
- Isotipo Ig : IgG1
- Imunógeno : CD138 (Sindecam-1)
- Reatividade : RUO – (Humanos – não testados em outras espécies)
- Controle positivo : Tonsila
- Marcação : Membrana celular

**Aplicações conhecidas**

Em Imunohistoquímica (IHQ) para uso em tecidos embebidos em parafina.

**Especificações:**

A proteína CD138 / Sindecam-1 é molécula de cadeia simples de 30.5 kDa da espinha dorsal. No domínio extracelular existe cinco pontos de ligação GAG. A estrutura de GAG parece refletir na fonte celular de sindecam. A expressão de CD138 em células hematopoiéticas humanas é restrito a células normais do plasma na medula óssea. Células B precursoras jovens na medula óssea humana são CD138 negativas. CD138 também é expresso em células endoteliais, fibroblastos, queratinócitos e hepatócitos normais.

**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. 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 600 ml de água destilada na panela elétrica (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 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 Muscae Plus (EasyPath) 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).

**Referência Bibliografia**

1. Wijdenes, J et al. "CD138 (syndecan-1) workshop panel report", 1997, Leucocyte Typing VI. Garland publishing, Inc., 1997; 249-252.
2. Sun, R et al. Large scale and clinical grade purification of syndecan-1+ malignant plasma cells. J. immunol. Methods, 1997; 205,73-79.
3. Carbone, A et al. "Reed-Sternberg cells of classical Hodgkin's disease react with the plasma cell-specific monoclonal antibody B-B4 and express human syndecan-1", 1997, Blood, 89: 3787-4794.
4. Center for Disease Control Manual. Guide: Safety Management, NO. CDC-22, Atlanta, GA. April 30, 1976 "Decontamination of Laboratory Sink Drains to Remove Azide Salts."
5. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Protection of laboratory workers from infectious diseases transmitted by blood and tissue; proposed guideline. Villanova, PA 1991;7(9). Order code M29-P.