



TAMPEREEN
AMMATTIKORKEAKOULU

TUKIMATERIAALI IMMUNOHISTOKEMIAL- LISISTA CD-VÄRJÄYKSISTÄ

Iina Puuppo

Viktoria Pälvi

Opinnäytetyö
Lokakuu 2015
Bioanalytiikka



SISÄLLYS

JOHDANTO	3
Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD10	4
Monoclonal Antibodies Detecting Human Antigens CD15.....	5
Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD19	6
Novocastra™ Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody CD1a.....	7
Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD2	8
Monoclonal Mouse Anti-Human CD20cy	9
Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD21	10
Bond™ Ready-To-Use Primary Antibody CD23	11
Novocastra™ Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody Interleukin-2 Reseptor (CD25).....	12
Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD3	13
Monoclonal Mouse Anti-Human CD30.....	14
Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD33	15
Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD4	16
Rat Anti Human CD52.....	17
Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD56	18
Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD7	19
Monoclonal Mouse Anti-Human CD99, MIC2 Gene Product Ewing`s Sarcoma Marker	20
LÄHTEET	21
LIITTEET	23

JOHDANTO

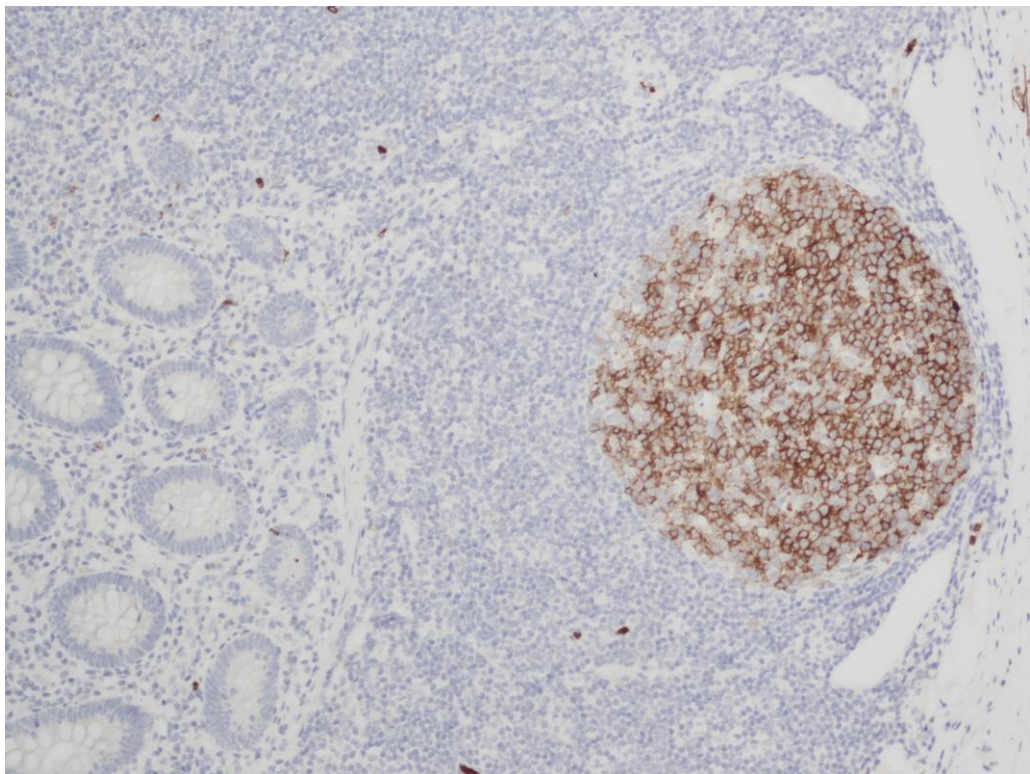
Opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä tukimateriaali CD-värjäyksistä Fimlab Laboratoriot Oy:n patologian osastolle ja sen tavoitteena on tukea värjäysten tekijöitä värjäyslaadun arvioinnin parantamisessa sekä tulkinassa. Tämä materiaali tulee paperiversiona mikroskopoinnin tueksi. Tukimateriaali kokoaa keskeisimmät tiedot CD-värjäyksistä ja siitä voi tarkistaa tarvittaessa positiivisen värjäytyvyyden, mitä värjäys värjää ja miten se värjää.

Fimlabin patologian laboratoriossa immunohistokemiallisissa CD-värjäyksissä näyttemateriaalina käytetään ainoastaan parafiiniin valettuja kudospäytteitä. Kyseisten värjäysten värjäykseen käytetään tiettyä kittiä ja immunohistokemiallista värjäysautomaattia. Käytössä oleva automaatti on Leica Biosystems'in Bond III, joka on täysautomaattinen laite (BOND-III Fully Automated IHC and ISH). Värjäyskittinä puolestaan käytetään Leica Biosystems'in Polymer Refine Detection -kittiä. Kitti sisältää peroksidaasiblokkerin, Post Primary Rabbit anti mouse IgG:n, Polymer Anti-rabbit Poly-HRP-IgG:n, DAB-kromogeenin ja hematoksyliinin. Kitti toimii seuraavalla tavalla:

1. Peroksidaasiblokkeri estää endogeenisen peroksidaasitoiminnan.
2. Näytteisiin lisätään käyttöön soveltuva spesifinen primaarivasta-aine.
3. Post Primary Rabbit anti mouse IgG paikantaa kudoksesta hiiren vasta-aineet.
4. Polymer Anti-rabbit Poly-HRP-IgG paikantaa kanin vasta-aineet.
5. DAB-kromogeenillä saadaan syntynyt vasta-aineiden ja antigeenin muodostama kompleksi visualisoitua.
6. Hematoksyliini värjää solujen tumat. (Bond™ Polymer Refine Detection.)

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD10

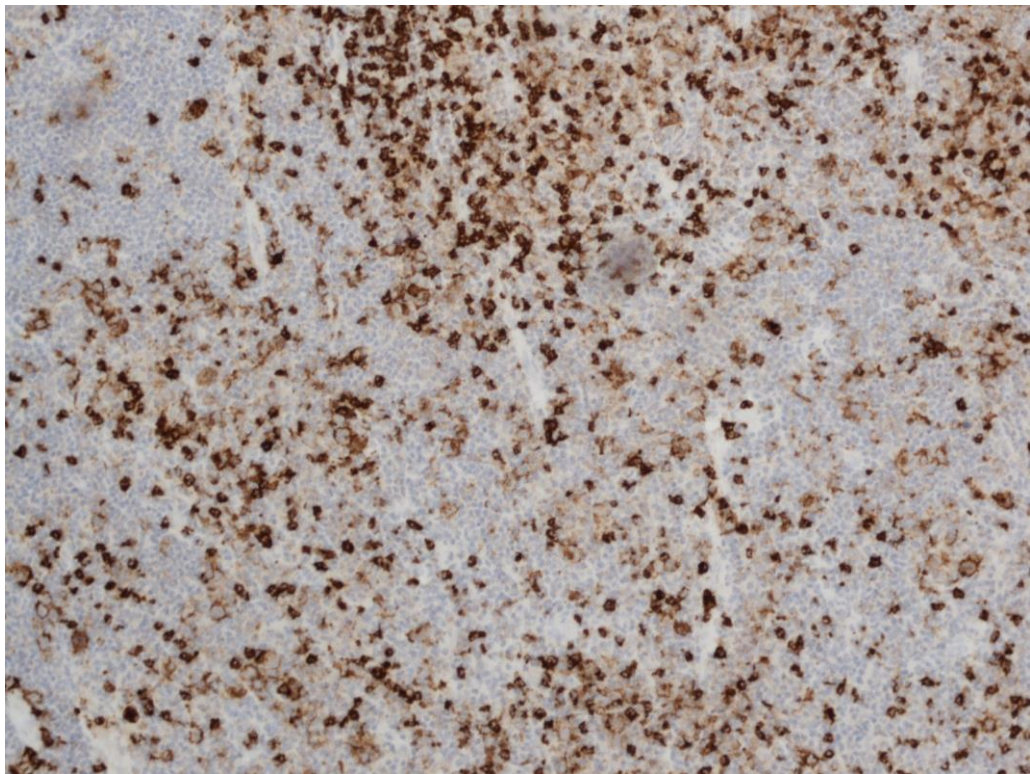
Värjäytyminen	Antigeenia tavataan normaalien varhaisten kantasolujen, epäkypsien luuytimen B-solujen ja lymfoidisen kudoksen germinaalisen keskuksen B-solujen pinnoilta. CD10-antigeenia voidaan havaita ilmentymästä myös esimerkiksi fibroblasteista ja suoliston epiteelikudoksesta.
Käyttö	Käytetään pienen B-solulymfoomien ja lymfoblastisten leukomoiden luokittelun erotusdiagnostiikassa.
Positiivinen kontrollikudos	Appendix, tonsilla



KUVA 1. CD10-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Monoclonal Antibodies Detecting Human Antigens CD15

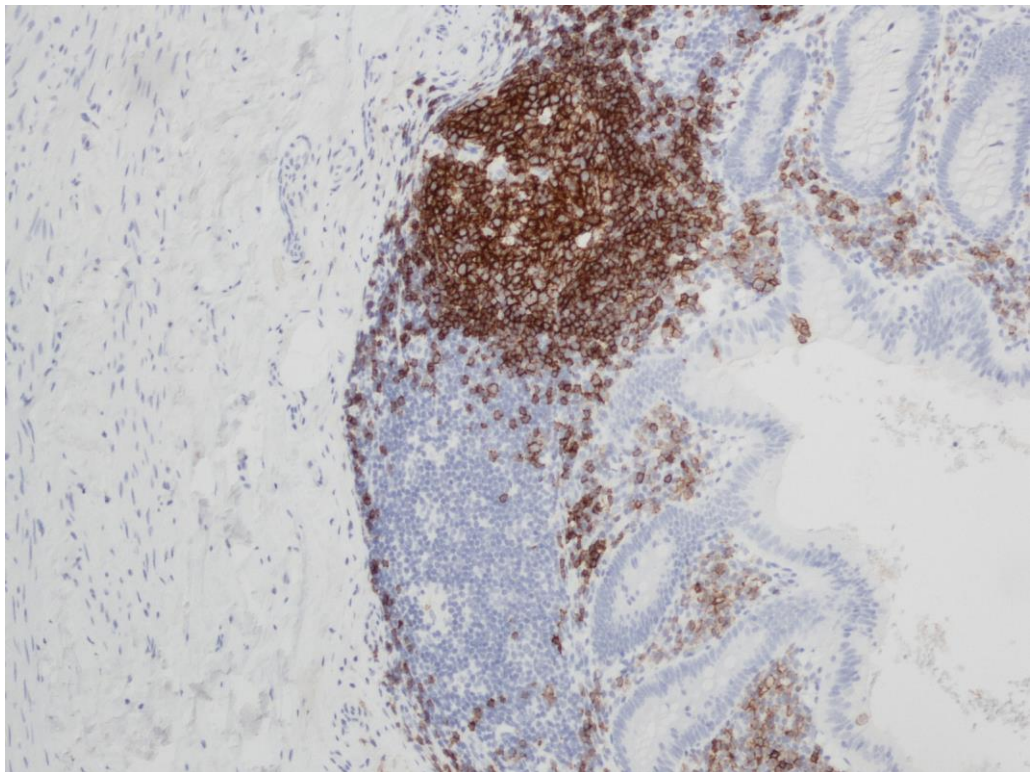
Värjäytyminen	CD15-antigeenia todetaan 95 %:ssa perifeerisen veren kypsistä eosinofiileistä ja neutrofiileistä, kudosten makrofageista sekä sitä ilmentyy myös monosyyteissä alhaisemmalla voimakkuudella. Lymfoidisessa kudoksessa vasta-aineena toimiva CD15 reagoi granulosityeissä ja Reed-Sternbergin solujen kanssa, jotka ovat välttämättömiä löytää, jotta voidaan antaa Hodgkinin lymfooman diagnoosi.
Käyttö	Hodgkinin taudin (lymfooma- eli imukudossyöpä) diagnostikassa.
Positiivinen kontrollikudos	Munuainen (proksimaalisen tubuluksen membraanin ja sytoplasmian voimakas värjäytyminen)



KUVA 2. CD15-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD19

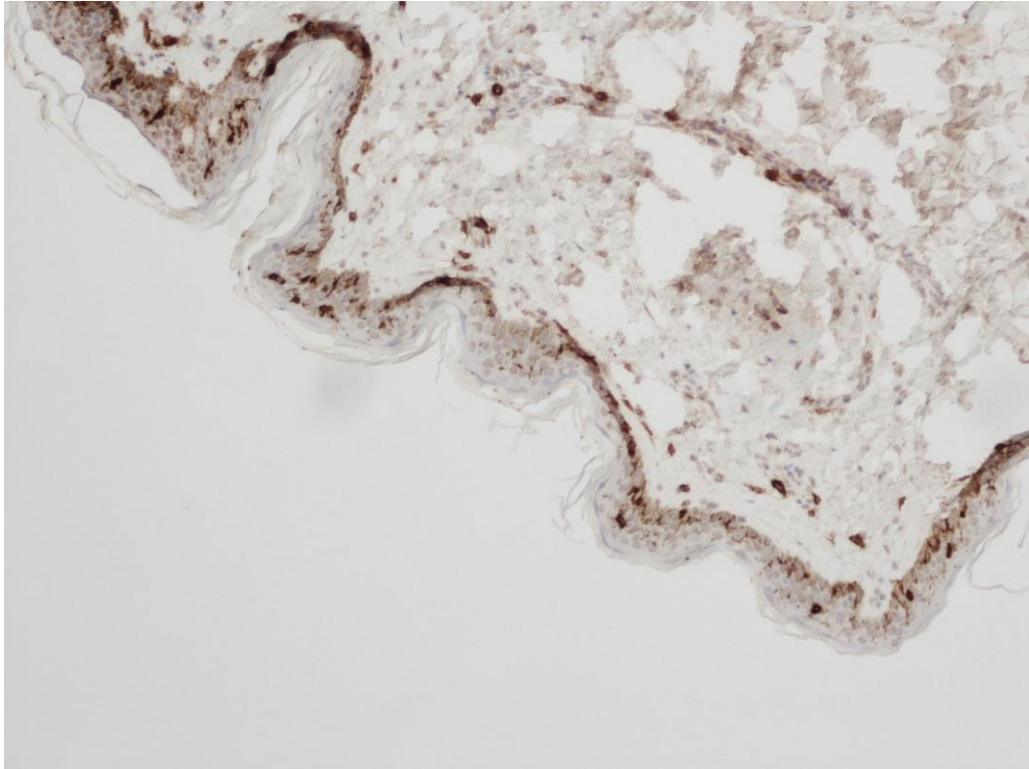
Värjäytyminen	CD19-antigeenia on havaittu ilmentyvän B-solulinjan solujen ulkokalvolla. Värjäytymistä todetaan myös manttelialueella ja tonsillin reaktiokeskuksissa sekä kudoksiin läpitukevissa B-lymfosyyteissa.
Käyttö	Vasta-ainetta käytetään osana vasta-ainepaneelia luokittelemaan B-solujen pahanlaatuiset tautitilat.
Positiivinen kontrollikudos	Appendix



KUVA 3. CD19-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Novocastra™ Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody CD1a

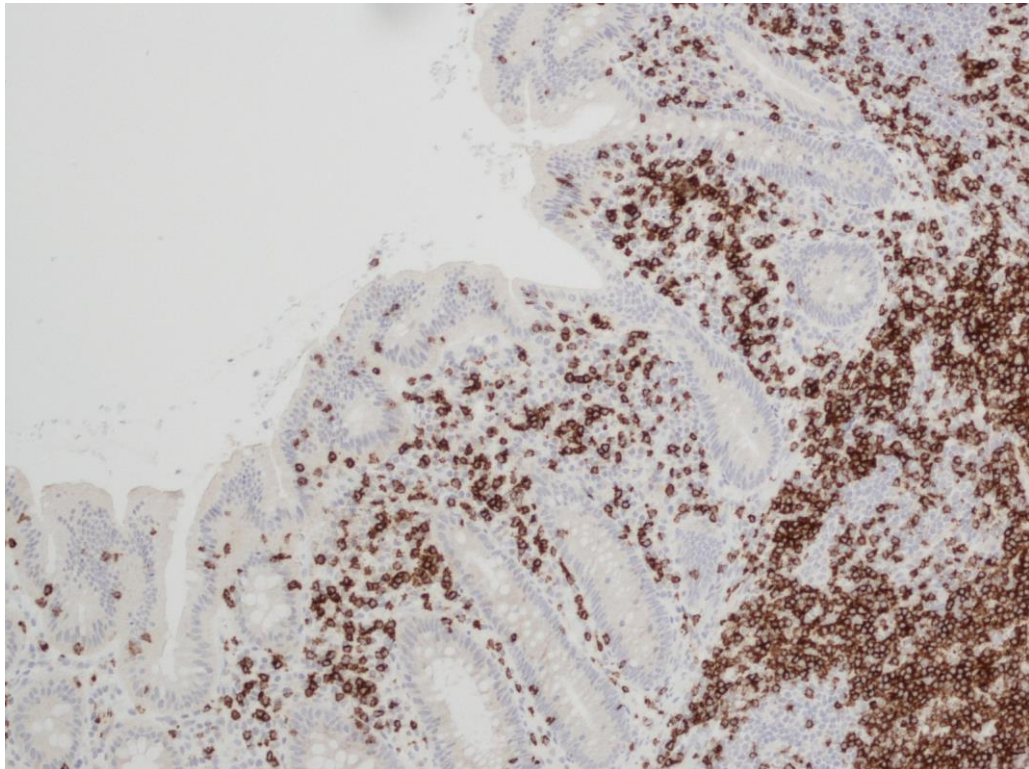
Värjäytyminen	CD1a-antigeenia on seuraavien solujen ulkokalvoilla: dendriittisolujen (iholla sekä tonsillassa), thymosyyttien (kateenkorvassa olevia hematopoeettisia kantasoluja) sekä Langerhansin soluissa.
Käyttö	Vasta-ainetta suositellaan käytettäväksi havaitsemaan CD1a-proteiinin ilmentymistä useissa normaaleissa ja kasvainkudoksissa kuten Langerhansin soluissa histiosyyttien (makrofagien) yleinen lisääntyminen sekä thymoomissa (kateenkorvan kasvain).
Positiivinen kontrollikudos	Kateenkorva, tonsilla, iho



KUVA 4. CD1a-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD2

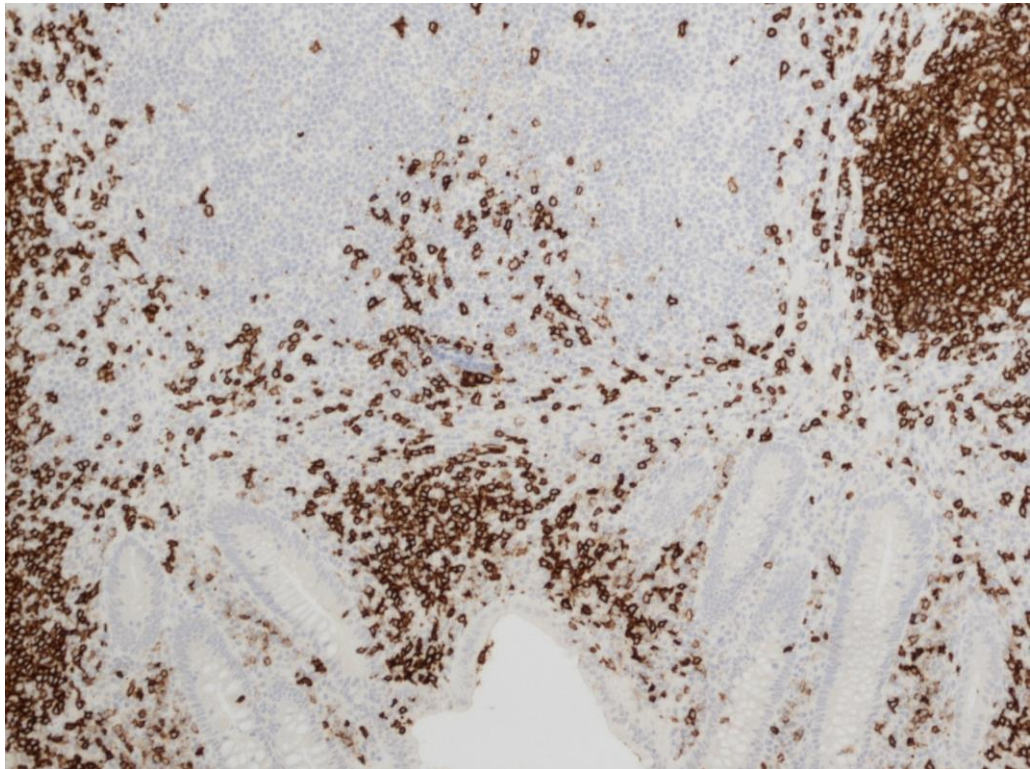
Värjäytyminen	CD2-antigeenia tavataan suurimmassa osassa perifeerisen veren T-solujen ulkopinnoista, useimmissa NK-soluissa sekä thymosyyteissä.
Käyttö	Vasta-ainetta käytetään osana vasta-ainepaneelia T-solujen aiheuttamien sairauksien luokittelussa.
Positiivinen kontrollikudos	Appendix



KUVA 5. CD2-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD20cy

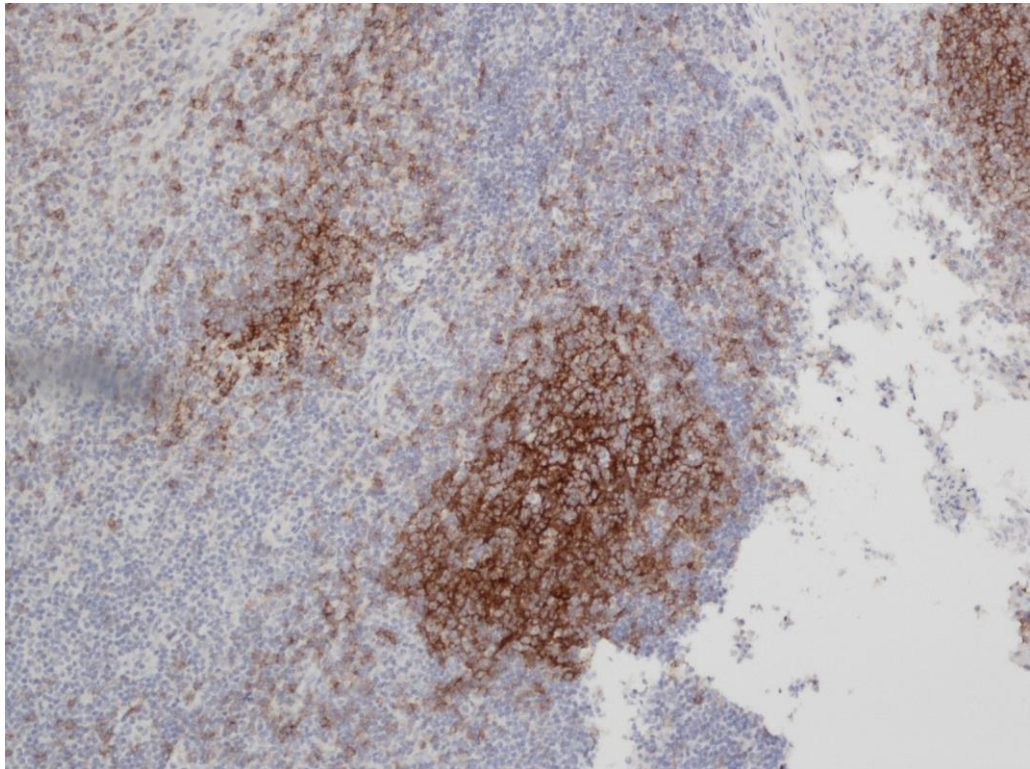
Värjäytyminen	CD20-antigeenia tavataan B-solujen, dendriittisolujen, lymfocyttien ja syöpien kanta-solujen ulkopinnoilla.
Käyttö	Käytetään B-solu lymfoomien, karvasoluleukemioiden, B-solujen kroonisessa lymfosyyttisessä leukemiassa sekä melanoomien diagnostiikassa.
Positiivinen kontrollikudos	Appendix, tonsilla



KUVA 6. CD20cy-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD21

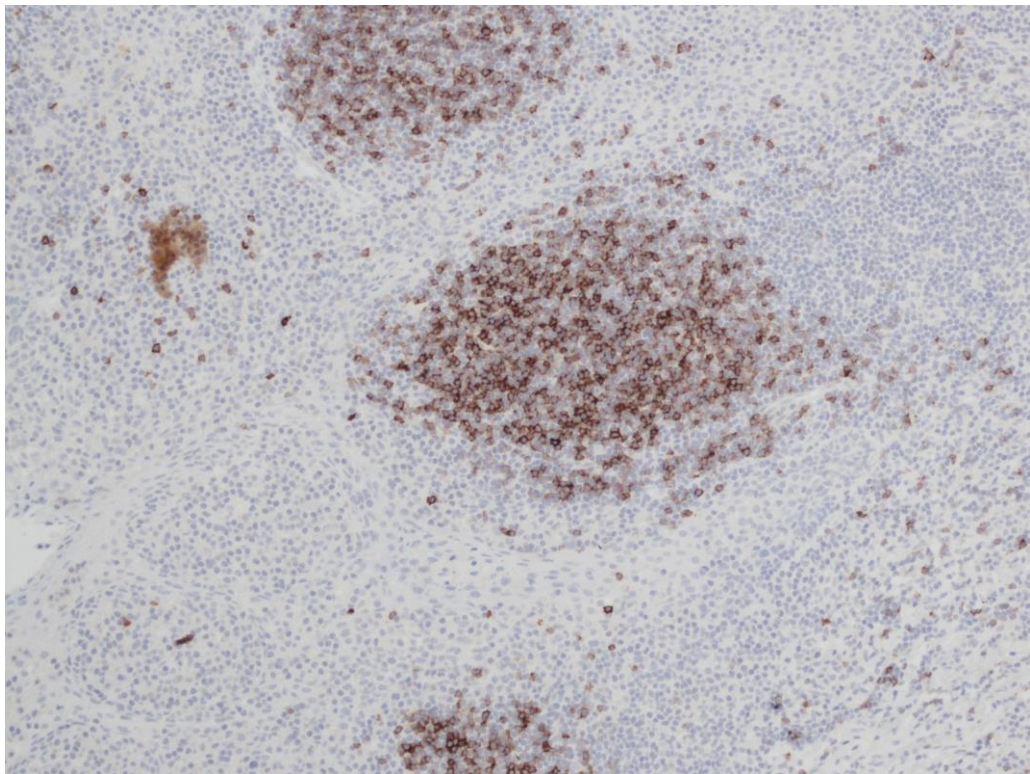
Värjäytyminen	CD21-antigeeni on proteiini kypsien B-solujen sekä lymfoidisen kudoksen follikulaaristen dendriittisolujen (FDC) solukalvolla.
Käyttö	Käytetään CD21-antigeenien normaalien ja epänormaalien reaktioiden ilmentämisen tulkintaan suhteessa vasta-aineisiin, joita löytyy follikulaarisista dendriittisoluista.
Positiivinen kontrollikudos	Tonsilla, (appendix)



KUVA 7. CD21-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Bond™ Ready-To-Use Primary Antibody CD23

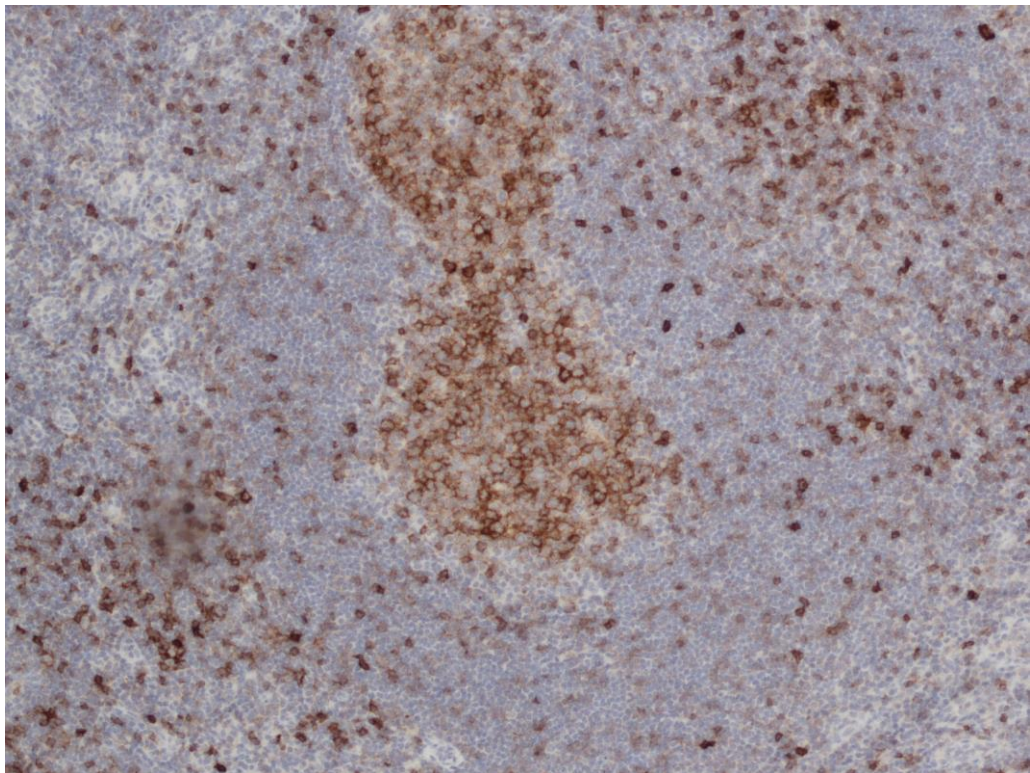
Värjäytyminen	CD23-antigeeni on solukalvolla oleva glykoproteiini, jota löytyy perifeerisen veren solujen alaryhmistä, B-lymfosyyteistä sekä B-lymfoblastisen solulinjan soluista, jotka ovat EBV:n muuntamia.
Käyttö	Käytetään normaalien B-solujen sekä pahanlaatuisten lymfoomien tunnistamiseen kuten krooniseen B-soluleukemiaan. Mantteli-solulymfooma on yleensä negatiivinen CD23: lle.
Positiivinen kontrollikudos	Tonsilla



KUVA 8. CD23-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Novocastra™ Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody Interleukin-2 Receptor (CD25)

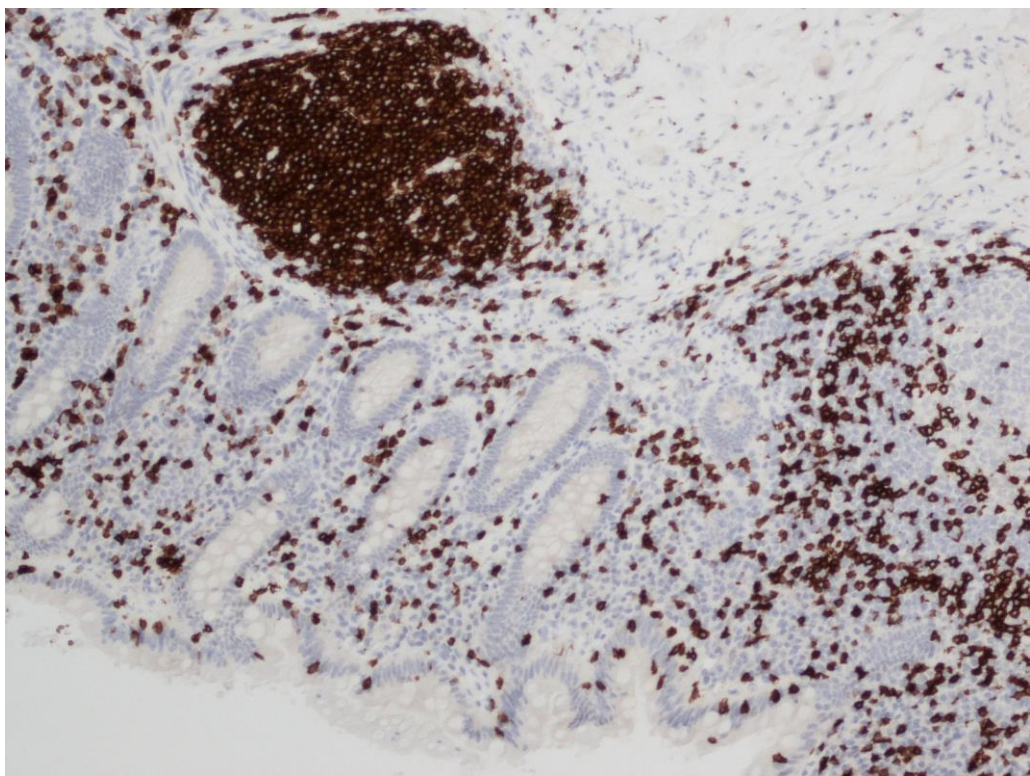
Värjäytyminen	CD25-antigeeni on yksiketjuinen glykoproteiini. IL-2 reseptoria ei löydy tavallisista T-soluista vaan sitä ilmentyy HTLV-I:n (Human T-lymphotropic virus) muuntamissa T- ja B-soluissa, EBV: muuntamissa B-soluissa (voi aiheuttaa tällöin lymfooman), myeloisissa prekursoreissa sekä oligodendrosyyteissä.
Käyttö	Karvasoluleukemian diagnostiikassa.
Positiivinen kontrollikudos	Tonsilla



KUVA 9. CD25-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD3

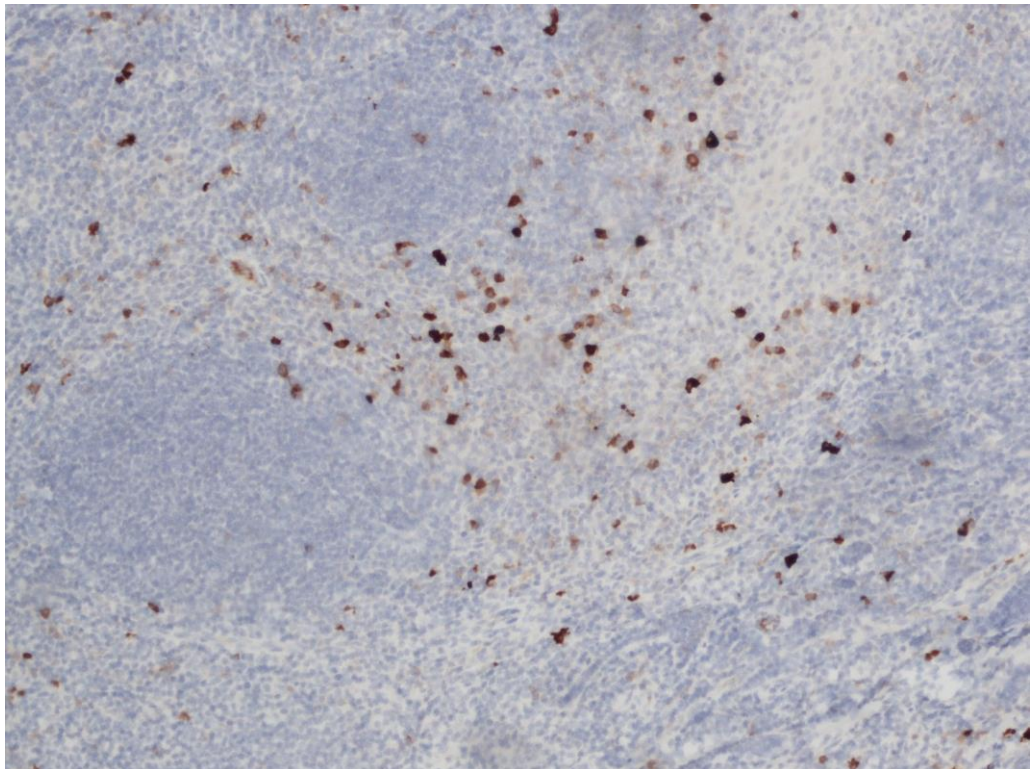
Värjäytyminen	CD3-antigeenia tavataan T-solujen ulkopinnalla.
Käyttö	Vasta-ainetta käytetään osana vasta-ainepaneelia osoittamaan T-solujen fenotyypit lymfoproliferatiivisissa sairauksissa.
Positiivinen kontrollikudos	Appendix, tonsilla



KUVA 10. CD3-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD30

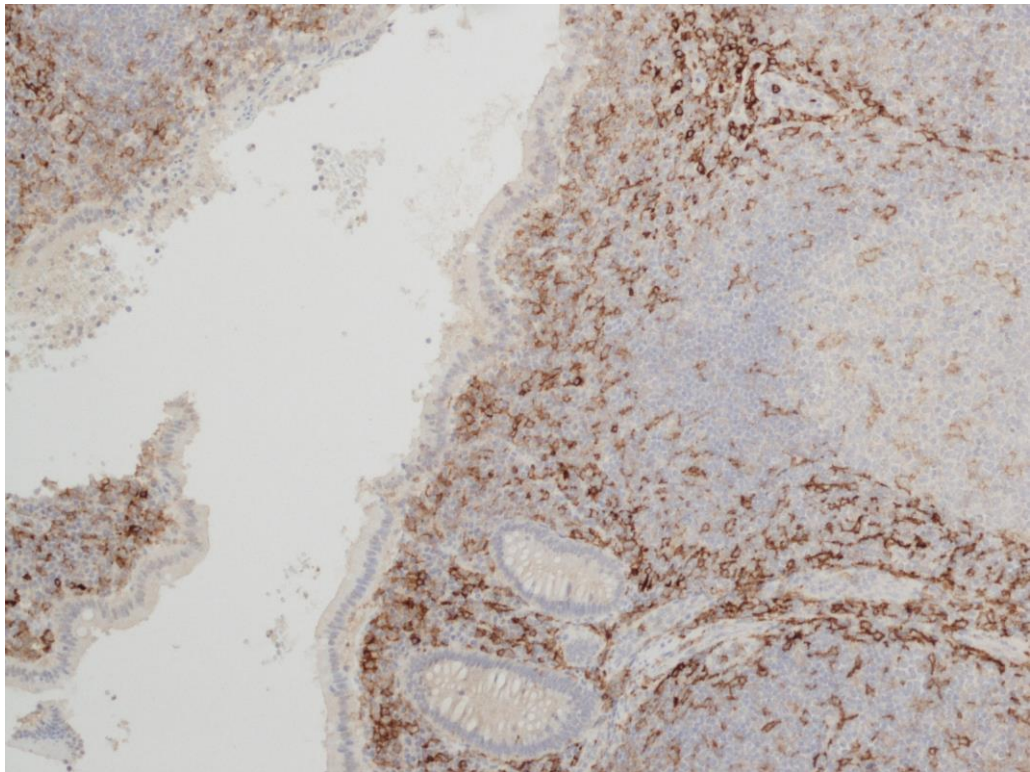
Värjäytyminen	CD30 on transmembraani sytokiinireseptori, joka kuuluu tuumori nekroosi faktori (TNF) sukuun. CD30-antigeenia ilmentymistä on havaittu Hodgkinin ja Reed-Stemberg (H-RS) soluissa, ALCL:n syöpäsoluissa ja aktiivisissa B- ja T-lymfosyyteissä. Eilymfoidisissa kudoksissa ja kasvaimissa CD30:a on vahvistettu olevan esim. sikiöaikaisissa karsinoomissa, seminoomissa (kiveksien irtosolukasvain) sekä mesoteliomissa (keuhkopussista tai vatsakalvosta oleva kasvain).
Käyttö	Vasta-aine leimaa syöpäsoluja ALCL:ssa (large-cell lymphoma) ja Reed-Stemberg soluja ja on hyödyllinen ALCL:n identifioimisessa sekä toissijaisena merkkiaineena Hodgkinin taudissa. Osana vasta-ainepaneelia.
Positiivinen kontrollikudos	Tonsilla



KUVA 11. CD30-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD33

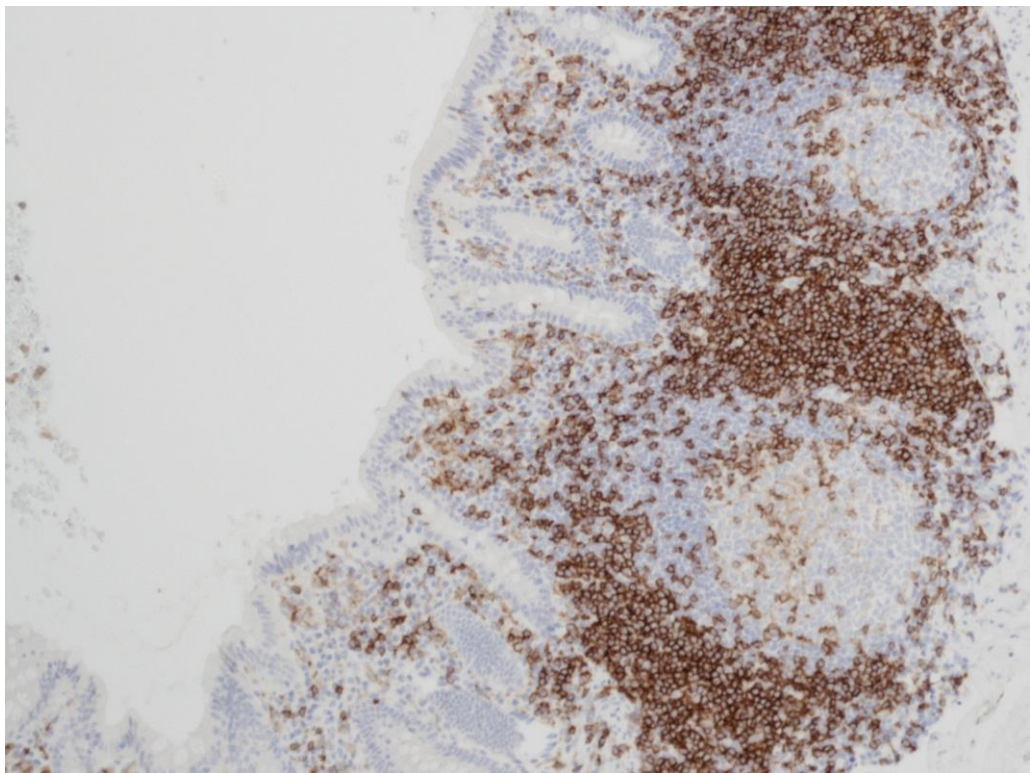
Värjäytyminen	CD33-antigeeni havaitaan myelomonosyyttisten solujen solukalvoilla ja sytoplasmassa. Punasolu- sekä trombosyyttipuolen soluilla ei todettu värjäytymistä.
Käyttö	Vasta-ainetta käytetään osana vasta-aine-paneelia myeloisen- sekä monosyyttilinjan solujen identifioimiseen ja näihin solulinjoihin liittyvien leukemioiden sekä myeloproliferatiivisten sairauksien tunnistamiseen
Positiivinen kontrollikudos	Appendix



KUVA 12. CD33-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD4

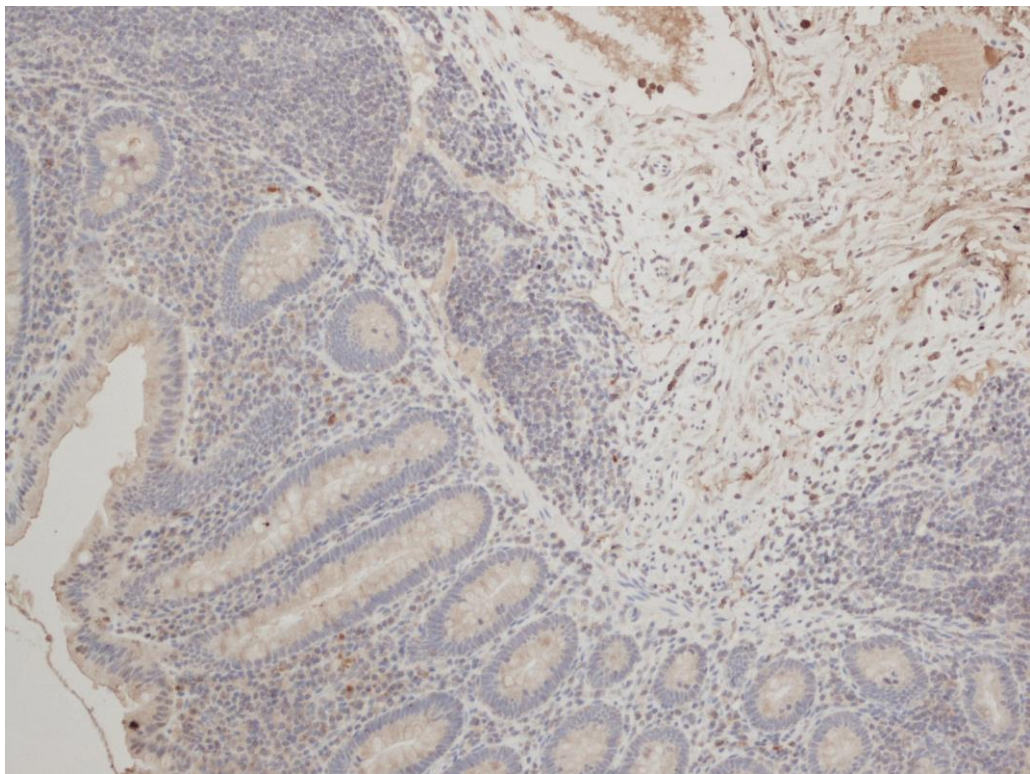
Värjäytyminen	CD4-antigeenia tavataan normaalien auttaja-T-solujen pinnalla.
Käyttö	Vasta-ainetta käytetään T-solujen aiheuttamien tautitilojen luokitteluun.
Positiivinen kontrolikudos	Appendix, tonsilla



KUVA 13. CD4-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Rat Anti Human CD52

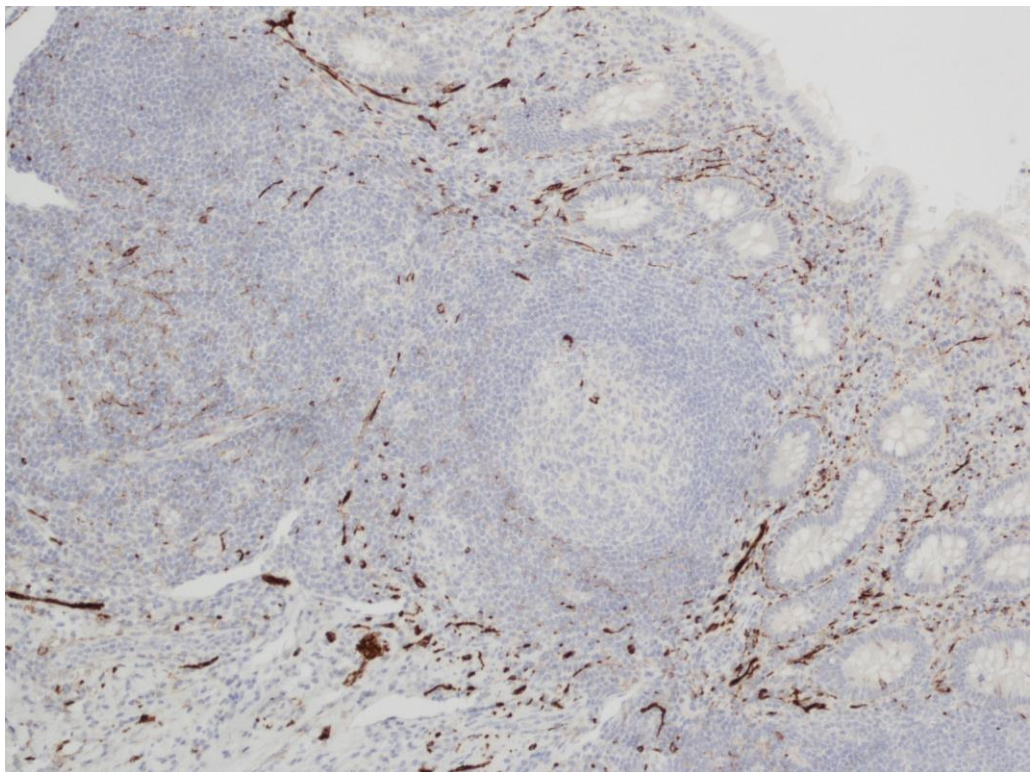
Värjäytyminen	Rotasta saatu vasta-aine CD52 reagoi ihmisen CD52-antigeenin kanssa, joka on huomattavan pieni peptidi, jota ilmentyy voimakkaasti seuraavien solujen pinnalta: lymfosyytit, monosyytit, eosinofiilit, thymosyytit ja makrofagit.
Käyttö	Käytetään imukudoksissa olevien pahanlaatuisten kasvainten diagnostiikassa sekä myös joissain tapauksissa myeloisten solujen löytämisessä, vaikka niissä CD52-antigeenin ilmentyminen vaihtelee huomattavasti.
Positiivinen kontrollikudos	Appendix, tonsilla



KUVA 14. CD52-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD56

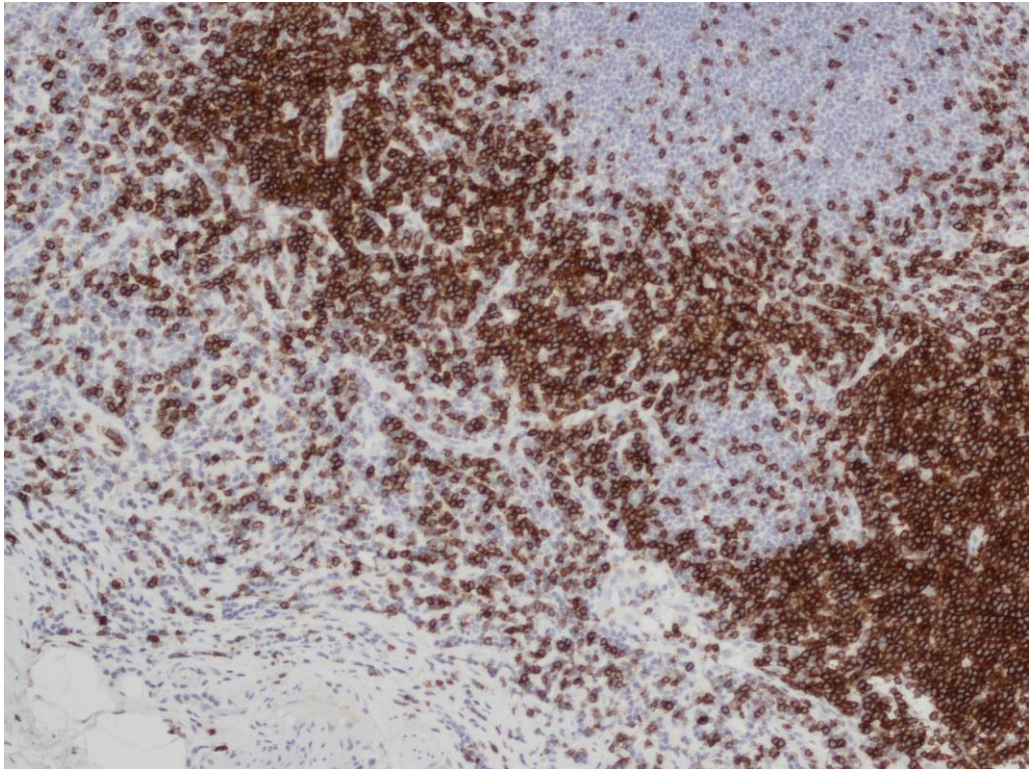
Värjäytyminen	CD56 on membraanin proteiini, jota ilmenee mm. NK-soluissa, osassa T-lymfosyyteistä ja neuroektodermaalisissa soluissa.
Käyttö	CD56-positiivisia tuumoreita ovat mm. neuroblastoomat ja erilaiset lymfoomat.
Positiivinen kontrollikudos	Appendix, (haima)



KUVA 15. CD56-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD7

Värjäytyminen	T-solujen solukalvot. Tutkimuksissa on todistettu, että tällä antigeenilla ei ole reaktiivisuutta muissa kuin tämän solulinjan soluissa.
Käyttö	Hiiren CD7 vasta-ainetta käytetään osana vasta-ainepaneelia, jolla pystytään luokittelemaan T-soluista peräisin olevat kasvaimet.
Positiivinen kontrollikudos	Appendix, tonsilla

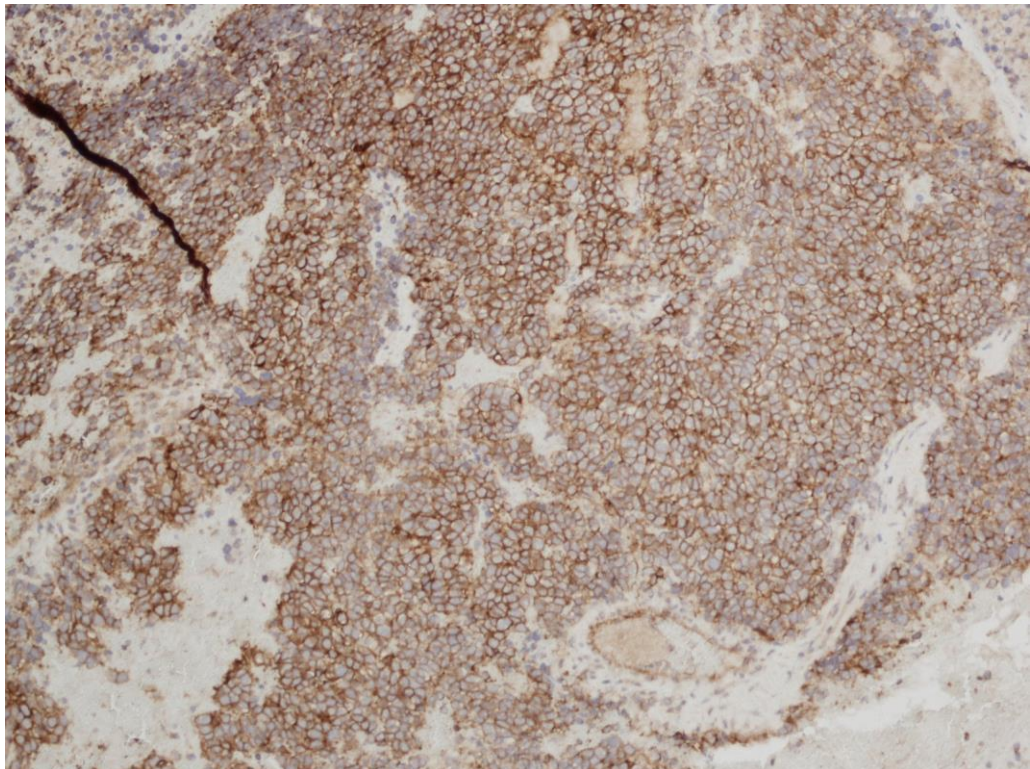


KUVA 16. CD7-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD99, MIC2 Gene Product

Ewing`s Sarcoma Marker

Värjäytyminen	Jotkut lymfosyytit (luuydin, imusolmukkeet, maksa) kortikaaliset thymosyytit, munasarjojen granuloosisolut, haimasaarekkeet, keskushermoston ependymaalisolut, kiveksien Sertolin solut ja joskus verisuonten endoteelisolut.
Käyttö	Ilmenee erityisesti Ewingin sarkoomassa esiintyvissä tuumorisoluissa ja primitiivisessä perifeeraalisissa neuroektodermaalisissa tuumoreissa. Käytetään myös apuna keuhkojen ja kilpirauhasen tuumoreiden luokitteluun.
Positiivinen kontrollikudos	Ewingin sarkooma, hemangioperisytooma



KUVA 17. CD99-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

LÄHTEET

Bond™ Ready-To-Use Primary Antibody CD23. Leica Biosystems. Datasheet.

CD15 antibodies, human (clone: VIMC6). Miltenyi Biotec. Luettu 8.10.2015.
<http://www.miltenyibiotec.com/en/products-and-services/macs-flow-cytometry/reagents/antibodies-and-dyes/cd15-antibodies-human.aspx>

CD20 Antibody (PrecisionAb™ Antibody). AbD Serotec. Luettu 8.10.2015.
https://www.abdserotec.com/human-cd20-antibody-vpa00099.html?WT.srch=1&WT.mc_id=aw-pqd-EU-precision_abs_vpa00099_cd20_antibody_abd_serotec&WT.knsh_id=d649f195-7ba8-4867-aa9a-b3a8ed3bb601

CD25. PathologyOutlines.com. Luettu 8.10.2015.
<http://www.pathologyoutlines.com/topic/cdmarkerscd25.html>

MCA2459 (CD52). AbD serotec. Datasheet.

Monoclonal Antibodies Detecting Human Antigens CD15. BD Biosciencies. Datasheet.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD20cy. Dako. Datasheet.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD30. Dako. Datasheet.

Monoclonal Mouse Anti-Human CD99, MIC2 Gene Product Ewing`s Sarcoma Marker. Dako. Datasheet.

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD3. Leica Microsystems. Datasheet.

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD4. Leica Microsystems. Datasheet.

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD7. Leica Microsystems. Datasheet.

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD19. Leica Microsystems. Datasheet.

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD21. Leica Microsystems. Datasheet.

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD33. Leica Microsystems. Datasheet.

Novocastra™ Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody CD1a. Leica Microsystems. Datasheet.

Novocastra™ Liquid Mouse Monoclonal Antibody CD56. Leica Biosystems. Datasheet.

Novocastra™ Lyophilized Mouse Monoclonal Antibody Interleukin-2 Reseptor (CD25). Leica Microsystems. Datasheet.

Rat Anti Human CD52. AbD Serotec. Datasheet.

Recombinant human B-lymphocyte Antigen CD20 Protein, 100µg. Proteinkinase.de.
Luettu 8.10.2015.

<http://www.proteinkinase.biz/cd-antigens/2176-recombinant-human-b-lymphocyte-antigen-cd20-protein-100microg.html?gclid=Cj0KEQjwqNiwBRDnq93Mioaq-tKQBEiQAb7EznyMI34JhaB8TGyuaIn8e6dmFRqBXMOjBSZ-CKtYrP5YaAu5a8P8HAQ>

LIITTEET

KUVA 1. CD10-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 2. CD15-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 3. CD19-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 4. CD1a-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 5. CD2-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 6. CD20cy-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 7. CD21-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 8. CD23-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 9. CD25-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 10. CD3-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 11. CD30-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 12. CD33-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 13. CD4-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 14. CD52-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 15. CD56-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 16. CD7-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).

KUVA 17. CD99-värjäys (Iina Puuppo & Viktoria Pälvi 2015).