

# Anti - EMA (CD227, Mucin-1)

## Kráľičia klonálna protilátka

### KATALÓGOVÉ ČÍSLO

#### KONCENTROVANÁ

DB 048-0.1	(100 µl)
DB 048-0.2	(200 µl)
DB 048-0.5	(500 µl)
DB 048-1	(1 ml)

#### PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

DB 048-RTU-7	(7 ml)
DB 048-RTU-15	(15 ml)

### SKLADOVANIE A APLIKÁCIA

#### KONCENTROVANÁ

**Skladovanie:** +4°C  
**Aplikácia:** IHC-P,  
riedenie 1:100

#### PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

**Skladovanie:** +4°C, nezmrazujte!  
**Aplikácia:** IHC-P,  
pripravená na použitie

### INFORMÁCIE O PRODUKTE

**Klon:** G22-L  
**Pufor:** 20 mM Tris-HCl, pH 8,0  
**Stabilizátor:** 20 mg/ml BSA  
**Konzervačná látka:** 0,05% NaN<sub>3</sub>  
**Špecifita:** ľudský antigén  
**Expirácia:** 24 mesiacov odo dňa odoslania  
**Imunogén:** Peptid derivovaný z C-koncovej sekvencie ľudského CD227. Protilátka rozpoznáva epitop umiestnený medzi Gly1235 - Ala1253.

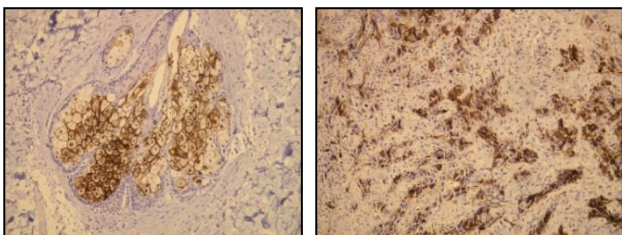
**Bunková lokalizácia:** cytoplazma, membrána, extracelulárna  
**Pozitívna kontrola:** tkanivo karcinómu prsníka  
**Uniprot číslo:** P15941

### IHC-P PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

1. Deparafinovanie rezov v 3 xylénoch po 10 min.
2. Rehydratácia rezov v zostupnej rade koncentrácie etylalkoholu (96%, 80% a 70%) po 10 min.
3. Oplach v destilovanej vode – 2 x 5 min.
4. Blokovanie endogénnej peroxidázy – 10 min. v 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
5. Oplach rezov v destilovanej vode – 2 x 5 min.
6. Na revitalizáciu antigénu použite jeden z nasledovných postupov: **A)** v Tris-EDTA pufrí, pH 9,0; 0,05% Tween-20\* a inkubácia vo vodnom kúpeli pri 95-97°C, 20-25 min., **B)** v citrátovom pufrí, pH 6,0; 0,05% Tween-20\*\* a inkubácia vo vodnom kúpeli pri 95-97°C, 20-25 min. (Alternatívne prispôbte Vášmu protokolu s dodržaním požadovanej hodnoty pH).
7. Chladenie rezov pri izbovej teplote (**A** – v Tris-EDTA pufrí, pH 9,0; **B** - v citrátovom pufrí, pH 6,0) – 15 min.
8. Oplach v destilovanej vode – 2 x 5 min.
9. Oplach v PBS, pH 7,0-7,5 doplnenom 0,05% Tween-20 (Pufor A) – 2 x 5 min.
10. **KONCENTROVANÁ:**  
Inkubácia rezov s primárnou protilátkou – 60 minút vo vlhkej komôrke pri izbovej teplote, **riedenie protilátky 1:100**.  
**PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU):**  
Inkubácia rezov s primárnou protilátkou vo vlhkej komôrke pri izbovej teplote, 60 minút. Protilátka je predriedená a **pripravená na použitie**.
11. Oplach v Pufrí A – 3 x 5 min.
12. Aplikácia sekundárnej protilátky (protokol závisí od dodávateľa) a pokračovanie v štandardnom IHC-P protokole (HRP-Peroxid-DAB). Odporúčame mikropolymer-HRP duálny detekčný kit králik/myš DB Biotech (<http://www.dbbiotech.com/produkty/protilatky/detekcny-system.html>).
13. Oplach v Pufrí A – 3 x 5 min.
14. Aplikácia chromogénu (DAB), 1 - 3 min.
15. Oplach v obvyčajnej vode – 2 x 5 min.
16. Dofarbenie hematoxylinom – 5 min.
17. Oplach v destilovanej vode – 3 x 2 min.
18. Montovanie.

\*Tris-EDTA pufor (10mM Tris báza, 1mM EDTA, 0,05% Tween-20, pH 9,0):  
TRIS ----- 1,21g; EDTA ----- 0,37g; Destilovaná voda ----- 1000 ml  
Rozpustiť v 700 ml destilovanej vody. Upraviť pH 1M HCl na 9,0 a pridať 0,5 ml Tween 20 a poriadne premiešať. Upraviť konečný objem na 1 liter s destilovanou vodou. Tento roztok skladujte pri izbovej teplote 3 mesiace alebo pri +4°C pre dlhodobé skladovanie.

\*\* Citrátový pufor (10mM Kyselina citrónová, 0,05% Tween-20 pH 6,0):  
Kyselina citrónová (bezvodná) ----- 1,92 g; Destilovaná voda ----- 1000 ml  
Rozpustiť v 700 ml destilovanej vody. Upraviť pH 1M NaOH na 6,0, pridať 0,5 ml Tween 20 a poriadne premiešať. Upraviť konečný objem na 1 liter s destilovanou vodou. Tento roztok skladujte pri izbovej teplote 3 mesiace alebo pri +4°C pre dlhodobé skladovanie.



Expresia EMA v sebaceózných žliazkach kože (A) a pľúcnom adenokarcinóme (B) detekovaná pomocou monošpecifickej protilátky anti-EMA (DB 048), 4 µm hrubý rez z ľudského tkaniva fixovaného vo formalíne a zaliateho vo parafíne, farbený podľa korešpondujúceho protokolu DB Biotech..

### VENTANA PROTOKOL – NÁVOD NA POUŽITIE

#### ODPORÚČANÝ APLIKAČNÝ PROTOKOL PRE VENTANA BENCHMARK SLIDE STAINING SYSTEM

#### PROCEDÚRA: U ultraView DAB

1. Odparafinovanie
2. Ohriať sklíčka (72 °C) zo strednej teploty. Odparafinovanie
3. Kondicionovanie buniek
4. ULTRA kondicionér #1
5. Zahriať sklíčka (95 °C), inkubovať po dobu 8 min. (Kondicionér buniek #1; pufor CC1)
6. **52 min. pri použití reagensie ULTRA CC1**
7. Teplota inkubácie protilátky
8. Zahriať sklíčka (36 °C) a inkubovať po dobu 4 min.
9. Titrácia
10. Ručná aplikácia primárnej protilátky (100 µl) a **inkubácia po dobu 36 min.**
11. ultraWash
12. Jadrové farbenie
13. Aplikovať jednu kvapku Hematoxylin II (jadrové farbenie). Zakryť a inkubovať po dobu 12 min.
14. Po jadrovom farbení
15. Aplikovať jednu kvapku Bluing reagent (po jadrovom farbení). Zakryť a inkubovať po dobu 4 min.

### LEICA BOND MAX PROTOKOL – NÁVOD NA POUŽITIE

#### ODPORÚČANÝ APLIKAČNÝ PROTOKOL PRE LEICA BOND MAX SLIDE STAINING SYSTEM

#### Protokol F:

- Vizualizačný systém: BOND Refine DS9800
- Epitope retrieval / čas nahrievania / teplota: ER2 / 30 min. / 100°C
- Inkubácia primárnej protilátky / teplota: 30 min. / 20°C

### UPOZORNENIA

1. Pre riedenie koncentrovaných protilátok doporučujeme použiť DB Riediaci roztok primárnej protilátky (katalógové čísla DB D-125, alebo DB D-250), alebo jeho ekvivalent s minimálnym obsahom "protease free BSA" ≥ 1mg/ml. V opačnom prípade nemusí dôjsť k uznaní reklamácie.
2. Pred otvorením skúmavku scentrifugovať.
3. Reagencia je určená pre profesionálnu In vitro diagnostiku v laboratóriách.
4. Nepoužívajte reagenziu po uplynutí doby použiteľnosti.
5. Chránite obsah fľaštičky pred kontamináciou.
6. Akákoľvek odchýlka od odporúčaných postupov uvedených v pracovnom protokole môže mať vplyv na konečné výsledky.
7. Reagencia obsahuje azid sodný (NaN<sub>3</sub>), ktorý je toxický pri vyšších koncentráciách, avšak koncentrácia prítomná v tejto reagenzii (0,05%) nie je považovaná za nebezpečnú.
8. Likvidácia odpadového materiálu sa musí vykonať podľa platných miestnych predpisov.
9. Používajte pri práci ochranné prostriedky a vyvarujte sa kontaktu s očami a pokožkou.