

Anti - Cytokeratin 20

Králičia klonálna protilátka

KATALÓGOVÉ ČÍSLO

KONCENTROVANÁ

DB 119-0.1	(100 µl)
DB 119-0.2	(200 µl)
DB 119-0.5	(500 µl)
DB 119-1	(1 ml)

PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

DB 119-RTU-7	(7 ml)
DB 119-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,
prípravená na použitie

INFORMÁCIE O PRODUKTE

Klon: E19-I
Pufoť: 20 mM Tris-HCl, pH 8,0
Stabilizátor: 20 mg/ml BSA
Konzervačná látka: 0,05% NaN₃
Špecifita: ľudský antigén
Expirácia: 24 mesiacov odo dňa odoslania
Imunogén: Peptid derivovaný z C-koncovej sekvencie ľudského cytokeratínu 20. Protilátka rozpoznáva epitop umiestnený medzi Val408 - Ile424.

Bunková lokalizácia: cytoplazma
Positívna kontrola: tkanivo adenokarcinómu hrubého čreva, tkanivo Merkelových buniek
Uniprot číslo: P35900

IHC-P PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

1. Deparafinovanie rezov v 3 xylénoch po 5 min.
2. Rehydratácia rezov v zostupnej rade koncentrácie etylalkoholu (96%, 80% a 70%) po 10 min.
3. Oplach v destilovanej vode.
4. Blokovanie endogénnej peroxidázy – 10 min. v 3% H₂O₂.
5. Oplach rezov v destilovanej vode.
6. Revitalizácia antigénu v Tris-EDTA pufrí, pH 9,0, 0,05% Tween-20* a inkubácia vo vodnom kupeli pri 95°C 60 min.
7. Chladienie rezov v pufrí (Tris-EDTA, pH 9,0) – 15 min.
8. Oplach v destilovanej vode.
9. Oplach v 0,05M Tris-HCl, pH 7,6 doplnenom 0,2% Tween-20 (Pufoť A) – 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 po vlhkej komôrke pri izbovej teplote, 60 minút. Protilátka je predriedená a **prípravená na použitie.**
11. Oplach v Pufrí A – 2 x 5 min.
12. Aplikácia sekundárnej protilátky (protokol závisí od dodávateľa) a pokračovanie v štandardnom IHC-P protokole (HRP-Peroxid-DAB). Odporúčame mikropolymér-HRP duálny detekčný kit králik/myš DB Biotech (<http://www.dbbiotech.com/produkt/protilatky/detekcny-system.html>).
13. Oplach v Pufrí A – 2 x 5 min.
14. Aplikácia chromogénu (DAB), 1 - 3 min.
15. Oplach v obyčajnej vode – 10 min.
16. Dofarbenie hematoxylínom – 5 min.
17. Oplach v obyčajnej vode – 10 min.
18. Odvodnenie v etylalkohole (96%) – 2 x 5 min.
19. Oplach v xyléne 2 x 2 min.
20. Montovanie.

* **Tris-EDTA pufoť (10mM Tris Base, 1mM EDTA solution, 0,05% Tween-20 pH 6,0):**
TRIS ----- 1,21 g; EDTA ----- 0,37 g; 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.

VENTANA PROTOKOL – NÁVOD NA POUŽITIE

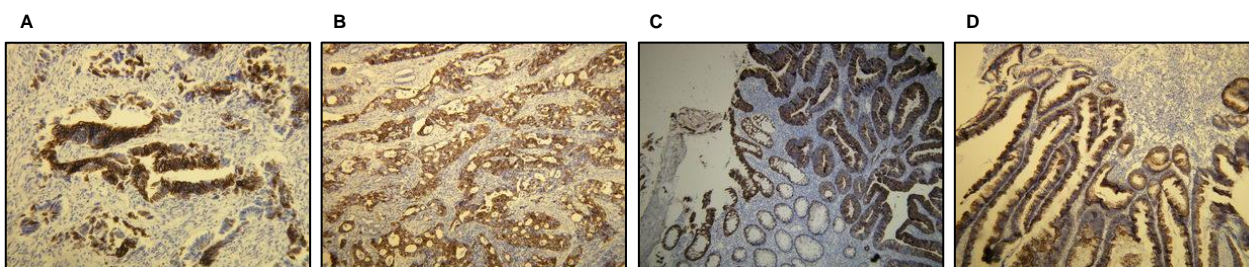
ODPORUČANÝ APLIKAČNÝ PROTOKOL PRE VENTANA BENCHMARK SLIDE STAINING SYSTEM

PROCEDÚRA: U ultraView DAB

1. Odparafinovanie
2. Ohriať sklička (72 °C) zo strednej teploty. Odparafinovanie
3. Kondicionovanie buniek
4. ULTRA kondicionér #1
5. Zahriať sklička (95 °C), inkubovať po dobu 8 min. (Kondicionér buniek #1; pufoť CC1)
6. **36 min. pri použití reagensu ULTRA CC1**
7. Teplota inkubácie protilátky
8. Zahriať sklička (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.

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 reagentiu 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 (NaN₃), ktorý je toxický pri **vyšších koncentráciách**, avšak koncentrácia prítomná v tejto reagentii (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.



Ľudský kolorektálny karcinóm s výraznou difúznou expresiou CK20 (A a B), ľudský kolorektálny adenokarcinóm a normálny epitel mukózy hrubého čreva (C) a ľudský adenóm hrubého čreva (D) s expresiou CK20. 4 µm hrubý rez tkaniva fixovaného vo formalíne a zaliataho v parafíne, farbený anti – CK20 (DB 119) monošpecifickou klonálnou protilátkou podľa korešpondujúceho protokolu DB Biotech.