

Anti - PD-L1

Králičia klonálna protilátka

KATALÓGOVÉ ČÍSLO

KONCENTROVANÁ

DB 241-0.1	(100 µl)
DB 241-0.2	(200 µl)
DB 241-0.5	(500 µl)
DB 241-1	(1 ml)

PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

DB 241- RTU-7	(7 ml)
DB 241- 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: Y19-I
Pufof: 20 mM Tris-HCl, pH 8,0
Stabilizátor: 20 mg/ml BSA
Konzervačná látka: 0,05% Na₂S₂O₃
Špecificita: ľudský antigén
Expirácia: 24 mesiacov odo dňa odoslania
Imunogén: Peptid derivovaný z internej oblasti ľudského PD-L1 proteínu

Bunková lokalizácia: membrána
Pozitívna kontrola: tkanivo placenty a pľúc
Uniprot číslo: Q9NZQ7

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% H₂O₂.
5. Oplach rezov v destilovanej vode, 2 x 5 min.
6. Revitalizácia antigénu v Tris-EDTA pufrí, pH 9,0*, a inkubácia vo vodnom kúpeli pri 96-98°C – 20-25 min.
7. Chladienie rezov v pufrí (Tris-EDTA pufof, pH 9,0) pri izbovej teplote – 20 min.
8. Oplach v destilovanej vode, 2 x 5 min.
9. Oplach v 0,05 M Tris-HCl, pH 7,6 doplnenom 0,2% Tween-20 alebo PBS doplnenom 0,05% Tween-20 (**Pufof A**) – 2 x 5 min.

KONCENTROVANÁ:

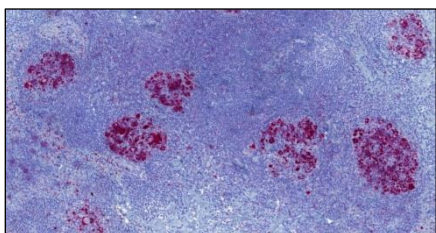
Inkubácia rezov s primárnou protilátkou – 60 minút vo vlhkej komôrke pri izbovej teplote, **riedenie protilátky 1:100**.

PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU):

Inkubácia rezov s primárnou protilátkou vo vlhkej komôrke pri izbovej teplote, 60 minút. Protilátka je predriedená a **prípravená na použitie**.

10. Oplach v Pufrí A – 3 x 5 min.
11. 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/produkt/protilatky/detekcny-system.html>).
12. Oplach v Pufrí A – 3 x 5 min.
13. Aplikácia chromogénu (DAB), 1 - 3 min.
14. Oplach v destilovanej vode, 2 x 5 min.
15. Oplach v roztoku modrej skalice /0,90 g NaCl + 0,50 g CuSO₄.5H₂O rozpustíme v 100 ml destilovanej vody/
16. Oplach v destilovanej vode, 1 x 2 min.
17. Dofarbenie hematoxylínom – 5 min.
18. Oplach v destilovanej vode, 3 x 2 min.
19. Oplach v roztoku hydroxidu amónneho (37mM)
20. Oplach v destilovanej vode, 1 x 2 min.
21. Montovanie.

* **Tris-EDTA pufof (10mM Tris báza, 1mM EDTA, 0,05% Tween-20, pH 9,0):**
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.



Membránová a cytoplazmatická pozitívita PD-L1 v epitelioidných histiocytoch a mnohojadrových obrovských bunkách v tuberkulózne lymfadenitíde (pre tento prípad bol použitý chromogén na báze alkalického fosfatázy).

VENTANA PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

ODPORUČANÝ APLIKAČNÝ PROTOKOL PRE VENTANA BENCHMARK SLIDE STAINING SYSTEM

1. Sušenie (Enter).
2. Zahriať sklička (72°C) a inkubovať po dobu 4 minút. Sušenie.
3. Odparafinovanie (Enter).
4. Ohriať sklička (72°C), Odparafinovanie.
5. Predĺžené odparafinovanie (Enter).
6. Kondicionovanie buniek (Enter).
7. ULTRA Kondicionér #2 (Enter).
8. Zahriať sklička (98°C) a inkubovať po dobu 8 minút (Kondicionér buniek #2).
9. 24 minút pri použití fľaše ULTRA CC1 (Enter).
10. 36 minút pri použití fľaše ULTRA CC2 (Enter).
11. Titrácia (Enter).
12. Ručná aplikácia primárnej protilátky a inkubácia po dobu 28 min.
13. Jadrové farbenie (Enter).
14. Aplikovať jednu kvapku Hematoxylínu.

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 uznaniu 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. Chráňte 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 (Na₂N₃), ktorý je toxický pri **vyšších koncentráciach**, 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.