

Anti – Giardin α -1

Kráľičia klonálna protilátka

KATALÓGOVÉ ČÍSLO

KONCENTROVANÁ

DB 319-0.1	(100 μ l)
DB 319-0.2	(200 μ l)
DB 319-0.5	(500 μ l)
DB 319-1	(1 ml)

PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

DB 319-RTU-7	(7 ml)
DB 319-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: D20-D

Pufor: 20 mM Tris-HCl, pH 8.0
Stabilizátor 20 mg/ml BSA
Konzervačná látka: 0.05% NaN₃

Špecifita: Giardin podjednotka alfa-1
Expirácia: 24 mesiacov odo dňa odoslania
Imunogén: Peptid odvodený z internej oblasti alfa-1 podjednotky proteínu Giardin (sp. *Giardia lamblia*). Protilátka rozpoznáva epitop umiestnený medzi Asp157 – Asp176.

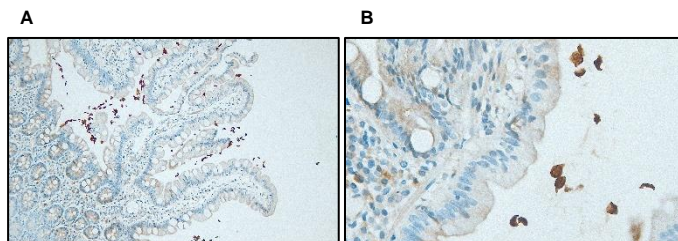
Lokalizácia: cytoskeleton
Positívna kontrola: infikované tkanivo čreva
Uniprot číslo: P17063

IHC-P PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

1. Deparafinovanie rezov v 3 xyléne po 5 min.
2. Rehydratácia rezov v zostupnej rade koncentrácií 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 pufri, pH 9,0, 0,05% Tween-20*, a inkubácia vo vodnom kúpeli pri 96 - 98 °C – 30 min.
(Alternatívne prispôbte Vášmu protokolu s dodržaním požadovanej hodnoty pH.)
7. Chladienie rezov v pufri (Tris-EDTA Pufor, pH 9,0) na izbovú teplotu – 15 min.
8. Oplach v destilovanej vode 2 x 5 min.
9. Oplach v PBS (0,05M Tris-HCl, pH 7,4) doplnenom 0,05% Tween-20 (**Pufor A**) – 2 x 5 min.
10. **KONCENTROVANÁ:**
Inkubácia rezov s primárnou protilátkou (100 μ l) – 60 minút vo vlhkej komôrke pri izbovej teplote, **riedenie protilátky 1:100**
PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU):
Inkubácia rezov s primárnou protilátkou (100 μ l) – 60 minút vo vlhkej komôrke pri izbovej teplote. Protilátka je predriedená a **prípravená na použitie**.
11. Oplach v Pufri 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.dbiotech.com/produkty/protiľatky/detekcny-system.html>).
13. Oplach v Pufri A – 3 x 5 min.
14. Aplikácia chromogénu (DAB), 1 - 3 min.
15. Oplach v destilovanej vode – 2 x 5 min.
16. Dofarbenie hematoxylnom – 1 min.
17. Oplach v destilovanej vode – 3 x 2 min.
18. Odvodnenie v etylalkohole (70%, 80%, 96 %) – 3 min.
19. Oplach v xyléne – 3 x 3 min.
20. Montovanie.

* Tris-EDTA pufor (10mM Tris Base, 1mM EDTA roztok, 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



G. *Lambli*a trofozoity lokalizované na povrchu čreva, detekované pomocou monošpecifickej protilátky Anti – Giardin α -1 (DB 319), podľa korešpondujúceho protokolu DB Biotech pre Ventana BenchMark Ultra (A) zväčšenie 10x, (B) zväčšenie 40x. Tkanivo infikovaného čreva fixované vo formalíne a zaliate v parafíne (4 μ m hrubý rez).

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; pufor CC1)
6. **36 min. pri použití reagentu 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 μ l) a **inkubácia po dobu 36 min.**
11. ultraWash
12. Jadrové farbenie
13. Aplikovať kvapku Hematoxyln II (jadrové farbenie). Zakryť a inkubovať po dobu 12 min.
14. Po jadrovom farbení
15. Aplikovať kvapku Bluing reagent (po jadrovom farbení). Zakryť a inkubovať po dobu 4 min.

PROCEDÚRA: O OptiView DAB IHC

1. Parafínový
2. Odparafinovanie
3. Ohriať sklička (72 °C) zo strednej teploty. Odparafinovanie
4. Kondicionovanie buniek
5. ULTRA kondicionér CC1
6. Zahriať sklička (95 °C), inkubovať po dobu 4 min. (Kondicionér buniek #1; pufor CC1)
7. **40 min. pri použití reagentu ULTRA CC1**
8. Predprimárny peroxidázový inhibítor
9. Primárna protilátka
10. Teplota inkubácie primárnej protilátky
11. Zahriať sklička (36 °C)
12. Titrácia protilátky
13. Ručná aplikácia primárnej protilátky (100 μ l) a **inkubácia po dobu 36 min.**
14. Jadrové farbenie
15. Aplikovať kvapku Hematoxyln II (jadrové farbenie). Zakryť a inkubovať po dobu 12 min.
16. Po jadrovom farbení
17. Aplikovať 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 číslo DB D-125, alebo DB D-250), alebo jeho ekvivalent s minimálnym obsahom "protease free BSA" \geq 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 reagentu 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 (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.