

## Anti - iNOS

### Kráľičia klonálna protilátka

#### KATALÓGOVÉ ČÍSLO

##### KONCENTROVANÁ

DB 003-IHC-0.1	(100 µl)
DB 003-IHC-0.2	(200 µl)
DB 003-IHC-0.5	(500 µl)
DB 003-IHC-1	(1 ml)

##### PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

DB 003-IHC-RTU-7	(7 ml)
DB 003-IHC-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:** K13-A  
**Pufor:** 20 mM Tris-HCl, pH 8,0  
**Stabilizátor:** 20 mg/ml BSA  
**Konzervačná látka:** 0,05% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

**Špecifita:** ľudský antigén  
**Expirácia:** 24 mesiacov odo dňa odoslania  
**Imunogén:** Peptid derivovaný z ľudskej iNOS sekvencie. Protilátka rozpoznáva epitop umiestnený medzi Ser1118 - Gly1129.

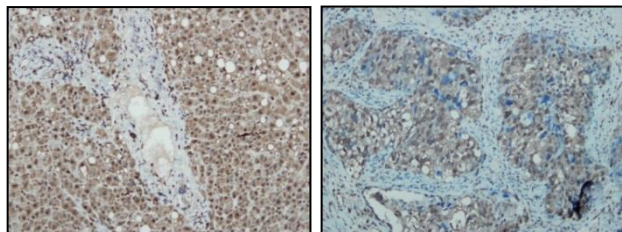
**Bunková lokalizácia:** cytoplazma, membrána  
**Pozitívna kontrola:** tkanivo pečene a pľúc  
**Uniprot číslo:** P35228

#### IHC-P PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

1. Deparafinovanie rezov v xyléne, 3 x 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% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
5. Oplach v destilovanej vode.
6. Revitalizácia antigénu v Tris-EDTA pufri, pH 9,0\* a inkubácia vo vodnom kúpeli pri 95-97°C - 25min.
7. Chladienie rezov v pufri (Tris-EDTA pufor, pH 9,0) – 15 min.
8. Oplach v destilovanej vode, 2 x 5 min.
9. Oplach v PBS (phosphate buffer saline, 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 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.dbbiotech.com/produktvy/protilatky/detekcny-system.html>).
13. Oplach v Pufri A – 3 x 5 min.
14. Aplikácia chromogénu (DAB), 1 - 3 min.
15. Oplach v obvyčajnej vode, 2 x 5 min.
16. Dofarbenie hematoxylínom – 5 min.
17. Oplach v destilovanej vode, 3 x 2 min.
18. Montovanie.

#### \* Tris-EDTA pufor (10mM Tris báza, 1mM EDTA, pH 9,0):

TRIS ----- 1,21 g; EDTA ----- 0,37 g; Destilovaná voda -----1000 ml  
Rozpusťte v 700 ml destilovanej vody. Upravte pH 1M HCl na 9,0 a poriadne premiešajte.  
Upravte konečný objem na 1 liter s destilovanou vodou. Tento roztok skladujte pri izbovej teplote 3 mesiace alebo pri +4°C pre dlhodobé skladovanie.



Vo formalíne fixované a v parafíne zaliaté tkanivá ľudskej pečene (A) a adenokarcinóm pľúc (B) v reakcii s anti-iNOS (DB 003-IHC) ukazujú silnú pozitívitu hepatocytov, resp. pľúcnych rakovinových buniek. 4 µm hrubý rez farbený podľa korešpondujúceho protokolu DB Biotech.

#### VENTANA PROTOKOL – NÁVOD NA POUŽITIE

##### ODPORUČANÝ 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. **20 min. pri použití reagentie 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 52 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

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

##### Protokol F:

- Vizualizačný systém: BOND Refine DS9800
- Epitope retrieval / čas nahrievania / teplota: ER2 / 20 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 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 (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), 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.