

# Anti - p53

## Kráľičia klonálna protilátka

### KATALÓGOVÉ ČÍSLO

#### KONCENTROVANÁ

|            |          |
|------------|----------|
| DB 026-0.1 | (100 µl) |
| DB 026-0.2 | (200 µl) |
| DB 026-0.5 | (500 µl) |
| DB 026-1   | (1 ml)   |

#### PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

|               |         |
|---------------|---------|
| DB 026-RTU-7  | (7 ml)  |
| DB 026-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

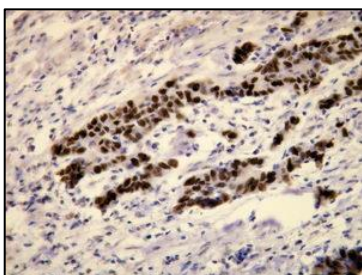
**Klon:** M26-A  
**Pufor:** 20 mM Tris-HCl, pH 8,0  
**Stabilizátor:** 20 mg/ml BSA  
**Konzervačná látka:** 0,05% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>  
**Špecifita:** ľudský antigén  
**Expirácia:** 24 mesiacov odo dňa odoslania  
**Imunogén:** Peptid derivovaný z N-koncovkej sekvencie ľudskej p53. Protilátka rozpoznáva epitop umiestnený medzi Ser46 - Pro67.

**Bunková lokalizácia:** jadro  
**Pozitívna kontrola:** tkanivo renálneho karcinómu, karcinóm hrubého čreva  
**Uniprot číslo:** P04637

### IHC-P PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

1. Deparafinovanie rezov v 3 xyléne 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% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
5. Oplach rezov v destilovanej vode – 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 – 20 - 25 min.  
(Alternatívne prispôbte Vášmu protokolu s dodržaním požadovanej hodnoty pH.)
7. Chladenie rezov v pufri (Tris-EDTA Pufor, pH 9,0) na izbovú teplotu – 15 min.
8. Oplach v destilovanej vode.
9. Oplach v 0,05M Tris-HCl, pH 7,6 doplnenom 0,2% Tween-20 (Pufor 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 vo vlhkej komôrke pri izbovej teplote, 60 minút. Protilátka je predriedená a **prípravená na použitie.**
11. Oplach v Pufri A – 2 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 kráľík/myš DB Biotech (<http://www.dbbiotech.com/produkty/protilatky/detekcny-system.html>).
13. Oplach v Pufri A – 2 x 5 min.
14. Aplikácia chromogénu (DAB), 1 - 3 min.
15. Oplach v obvyčajnej vode.
16. Dofarbenie hematoxylinom – 5 min.
17. Oplach v obvyčajnej vode – 10 min.
18. Odvodnenie v etylalkohole (96 %) – 2 x 5 min.
19. Oplach v xyléne 2 x 2 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 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.



Serózný karcinóm ľudského ovária (vysokého stupňa) vykazujúci silnú expresiu jadrového p53. 4 µm hrubý rez farbený anti - p53 (DB 026) monošpecifickou klonálnou protilátkou 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 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. **64 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 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 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 (Na<sub>3</sub>N), 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.

