

## Anti - EGFR

### Kráľičia klonálna protilátka

#### KATALÓGOVÉ ČÍSLO

##### KONCENTROVANÁ

DB 092-0.1	(100 µl)
DB 092-0.2	(200 µl)
DB 092-0.5	(500 µl)
DB 092-1	(1 ml)

##### PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

DB 092-RTU-7	(7 ml)
DB 092-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:** A20-E  
**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>

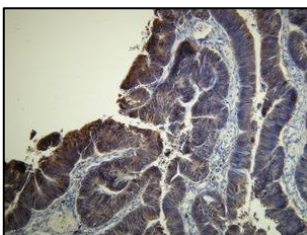
**Špecifita:** ľudský antigén  
**Expirácia:** 24 mesiacov odo dňa odoslania  
**Imunogén:** Peptid derivovaný z C-konca ľudského EGFR. Protilátka rozpoznáva epitop umiestnený medzi Ser1120 - Asn1135.

**Bunková lokalizácia:** membrána, extracelulárna  
**Pozitívna kontrola:** tkanivo skvamocelulárneho karcinómu kože  
**Uniprot číslo:** P00533

#### 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% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
5. Oplach rezov v destilovanej vode – 5 min.
6. Revitalizácia antigénu v Tris-EDTA pufrí, pH 9,0, 0,05% Tween-20\* a inkubácia vo vodnom kúpeli pri 95 °C 30 min. (Alternatívne prispôbte Vášmu protokolu s dodržaním požadovanej hodnoty pH.)
7. Chladenie rezov v pufrí (Tris-EDTA pufor, 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 (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 **pripravená 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 mikropolymer-HRP duálny detekčný kit králik/myš DB Biotech (<http://www.dbbiotech.com/produkty/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.
16. Dofarbenie hematoxylnom – 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 pufor (10mM Tris Base, 1mM EDTA solution, 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 expresia EGFR v bunkách kolorektálneho adenokarcinómu. 4 µm hrubý rez z ľudského tkaniva fixovaného vo formalíne a zaliateho v parafíne, farbený anti-EGFR (DB 092) monošpecifickou klonálnou protilátkou 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 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. **52 min. pri použití reagentie 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 56 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 / 30 min. / 100 °C**
- Inkubácia primárnej protilátky / teplota: **30 min. / LT**

#### 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 (NaN<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.

