

Anti - C-erbB-2 (Her-2/neu)

Kráľičia klonálna protilátka

KATALÓGOVÉ ČÍSLO

KONCENTROVANÁ

DB 094-0.1	(100 µl)
DB 094-0.2	(200 µl)
DB 094-0.5	(500 µl)
DB 094-1	(1 ml)

PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

DB 094-RTU-7	(7 ml)
DB 094-RTU-15	(15 ml)

SKLADOVANIE A APLIKÁCIA

KONCENTROVANÁ

Skladovanie: +4°C
Aplikácia: IHC-P,
riedenie 1:100

PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

Skladovanie: +4°C, nezmrazajte!
Aplikácia: IHC-P,
prípravená na použitie

INFORMÁCIE O PRODUKTE

Klon: A24-V
Pufoť: 20 mM Tris-HCl, pH 8,0
Stabilizátor: 20 mg/ml BSA
Konzervačná látka: 0,05% NaN₃

Špecifita: ľudský antigén
Expirácia: 24 mesiacov odo dňa odoslania
Imunogén: Peptid derivovaný z C-konca ľudského C-erbB-2 proteínu. Protilátka rozpoznáva epitop umiestnený medzi Pro1233 - Pro1254.

Bunková lokalizácia: membrána, cytoplazma
Pozitívna kontrola: duktálny karcinóm prsníka
Uniprot číslo: P04626

IHC-P PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

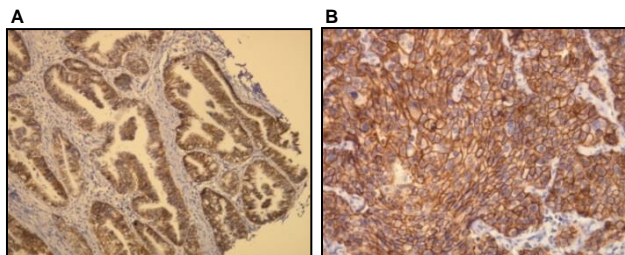
1. Deparafinovanie rezov v 3 xylénoch po 10 min.
2. Rehydratácia rezov v zostupnej rade koncentrácie etylalkoholu (96%, 80% a 70%) po 10 min.
3. Oplach v destilovanej vode – 2 x 5 min.
4. Blokovanie endogénnej peroxidázy – 10 min. v 3% H₂O₂.
5. Oplach rezov v destilovanej vode – 2 x 5 min.
6. Na revitalizáciu antigénu použite jeden z nasledovných postupov: **A)** Tris-EDTA pufoť, pH 9,0, 0,05% Tween-20* a inkubácia vo vodnom kúpeli pri 95-97°C po 20-25 min. alebo **B)** citrátový pufoť, pH 6,0, 0,05% Tween-20** a inkubácia vo vodnom kúpeli pri 95-97°C po 20-25 min. (Alternatívne prispôbte Vášmu protokolu s dodržaním požadovanej hodnoty pH).
7. Chladienie rezov pri izbovej teplote (**A** – v Tris-EDTA pufoť, pH 9,0; **B** - v citrátovom pufoť, pH 6,0) – 15 min.
8. Oplach v destilovanej vode – 2 x 5 min.
9. Oplach v PBS, pH 7,0-7,5 doplnenom 0,05% Tween-20 (Pufoť 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 **prípravená na použitie.**
11. Oplach v Pufoť A – 3 x 5 min.
12. Aplikácia sekundárnej protilátky (protokol závisí od dodávateľa) a pokračovanie v štandardnom IHC-P protokole (HRP-Peroxid-DAB). Odporúčame mikropolymér-HRP duálny detekčný kit králik/myš DB Biotech (<http://www.dbbiotech.com/produkty/protilatky/detekcny-system.html>).
13. Oplach v Pufoť 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 pufoť (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.

**Citrátový pufoť (10mM Kyselina citrónová, 0,05% Tween-20 pH 6,0):

Kyselina citrónová (bezvodná) ----- 1,92 g; Destilovaná voda ----- 1000 ml
Rozpustiť v 700 ml destilovanej vody. Upraviť pH 1M NaOH na 6,0, 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



Detekcia C-erbB-2 proteínu v adenokarcinóme žalúdka (**A**) a v duktálnom karcinóme prsníka (**B**) pomocou monošpecifickej protilátky anti – C-erbB-2 (DB 094). 4 µm hrubý rez z ľudského tkaniva fixovaného vo formalíne a zaliateho v parafíne, 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 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; pufoť CC1)
6. **36 min. pri použití reagensie 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 44 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. / 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 (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.