

# Anti - Cytokeratin 5/6

## Králičia klonálna protilátka

### KATALÓGOVÉ ČÍSLO

#### KONCENTROVANÁ

DB 097-0.1	(100 µl)
DB 097-0.2	(200 µl)
DB 097-0.5	(500 µl)
DB 097-1	(1 ml)

#### PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

DB 097-RTU-7	(7 ml)
DB 097-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:** T16-K  
**Pufoť:** 20 mM Tris-HCl, pH 8,0  
**Stabilizátor:** 20 mg/ml BSA  
**Konzervačná látka:** 0,05% NaN<sub>3</sub>  
**Špecifita:** ľudský antigén  
**Expirácia:** 24 mesiacov odo dňa odoslania  
**Imunogén:** Peptid derivovaný z C-koncovkej sekvencie ľudského cytokeratínu 6. Protilátka rozpoznáva epitop (identický s cytokeratínom 5) umiestnený medzi Thr548 – His564.

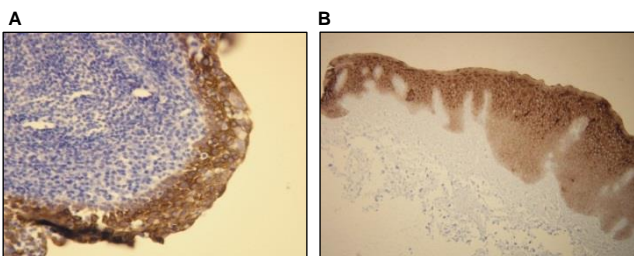
**Bunková lokalizácia:** cytoplazma  
**Pozitívna kontrola:** epiderma kože alebo tkanivo prostaty (bazálne bunky), skvamocelulárny karcinóm kože  
**Uniprot číslo:** P13647 (CK5), P02538 (CK6)

### 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% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
5. Oplach rezov v destilovanej vode – 2 x 5 min.
6. Revitalizácia antigénu v Tris-EDTA pufoť, pH 9,0\* a inkubácia vo vodnom kúpeli pri 95-97 °C – 25 min.
7. Chladienie rezov v pufoť (Tris-EDTA pufoť, pH 9,0) – 15 min.
8. Oplach v destilovanej vode – 2 x 5 min.
9. Oplach v PBS, pH 7,0-7,5 doplneným 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 pokračuje 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 Pufoť A – 3 x 5 min.
14. Aplikácia chromogénu (DAB), 1 - 3 min.
15. Oplach v destilovanej 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, 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.



Expresia Cytokeratínu 5/6 v epiteli podnebnjej mandle (ručné farbenie) (A) a v epiderme kože (farbenie automatom Ventana) (B), detekovaná monošpecifickou klonálnou protilátkou anti-cytokeratín 5/6 (DB 097). 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 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

#### 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. Reagentia 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. Reagentia 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.