

Anti - Cytokeratin 16

Kráľičia klonálna protilátka

KATALÓGOVÉ ČÍSLO

KONCENTROVANÁ

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

PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

DB 100-RTU-7	(7 ml)
DB 100-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: R20-S
Pufor: 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 cytokeratin 16 proteínu. Protilátka rozpoznáva epitop umiestnený medzi Gln454 - Gln471.

Bunková lokalizácia: cytoplazma
Pozitívna kontrola: tkanivo skvamocelulárneho karcinómu kože
Uniprot číslo: P08779

IHC-P PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

1. Deparafinovanie rezov v 3 xylénach 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% H₂O₂.
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 pufo, 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 (Pufo 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 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 kráľík/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 obvyčajnej vode.
16. Dofarbenie hematoxylínom – 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 pufo (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.



Expresia CK16 v lumenálnych bunkách ľudských potných žliazok. 4 µm hrubý rez tkaniva fixovaného vo formalíne a zaliateho v parafíne, farbený anti - Cytokeratin 16 (DB 100) 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 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; pufo CC1)
6. **36 min. pri použití reagentu 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 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. / 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 reagentu po uplynutí doby použiteľnosti.
5. Chránite 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.

