

## Anti - p16

### Myšacia monoklonálna protilátka

#### KATALÓGOVÉ ČÍSLO

##### KONCENTROVANÁ

DB 253-0.1	(100 µl)
DB 253-0.2	(200 µl)
DB 253-0.5	(500 µl)
DB 253-1	(1 ml)

##### PRIPRAVENÁ NA POUŽITIE (RTU)

DB 253-RTU-7	(7 ml)
DB 253-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:** R15-A  
**Pufof:** 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:** Ľudský p16 proteín

**Bunková lokalizácia:** cytoplazma, jadro  
**Pozitívna kontrola:** tkanivo karcinómu krčka maternice  
**Uniprot číslo:** P42771

#### 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 pufrí, pH 9,0\* a inkubácia vo vodnom kúpeli pri 95-97°C – 25 min.
7. Chladienie rezov v pufrí (Tris-EDTA Pufof, pH 9,0) – 15 min.
8. Oplach v destilovanej vode – 2 x 5 min.
9. Oplach v PBS (phosphate buffer saline, pH 7,0-7,5) doplnenom 0,05% Tween-20 (Pufof 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 **pripravená na použitie.**
11. Oplach v Pufrí A – 3 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 – 3 x 5 min.
14. Aplikácia chromogénu (DAB), 1 - 3 min.
15. Oplach v obyčajnej vode, 2 x 5 min.
16. Dofarbenie hematoxylínom – 5 min.
17. Oplach v obyčajnej vode – 3 x 2min.
18. Montovanie.

#### \* Tris-EDTA pufof (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. Upraviť konečný objem na 1 liter s destilovanou vodou. Tento roztok skladujte pri izbovej teplote 3 mesiace alebo pri +4°C ore dlhodobé skladovanie.



HG SIL výrazná nukleárna a cytoplazmatická pozitívita p16, vizualizovaná anti-p16 protilátkou DB 253, klon R15-A. 4 µm hrubý rez z ľudského tkaniva farbený podľa korešpondujúceho protokolu DB Biotech.

#### VENTANA PROTOKOL - NÁVOD NA POUŽITIE

##### ODPORÚČANÝ APLIKAČNÝ PROTOKOL PRE VENTANA BENCHMARK SLIDE STAINING SYSTEM

1. Sušenie (Enter).
2. Zahriať sklíčka (72°C) a inkubovať po dobu 4 minút. Sušenie.
3. Odparafinovanie (Enter).
4. Ohriať sklíčka (72°C), Odparafinovanie.
5. Kondicionovanie buniek (Enter).
6. ULTRA Kondicionér #1 (Enter).
7. Zahriať sklíčka (95°C) a inkubovať po dobu 8 minút (Kondicionér buniek #1).
8. 20 minút pri použití fľaše ULTRA CC1 (Enter).
9. 36 minút pri použití fľaše ULTRA CC1 (Enter).
10. Titrácia (Enter).
11. Ručná aplikácia primárnej protilátky a inkubácia po dobu 36 min.
12. Jadrové farbenie (Enter).
13. Aplikovať jednu kvapku Hematoxylin (Jadrové farbenie), zakryť a inkubovať po dobu 4 minút.
14. Po jadrovom farbení (Enter).
15. Aplikovať jednu kvapku bluing reagent (po jadrovom farbení), zakryť a inkubovať po dobu 4 minút.

#### 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 (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.