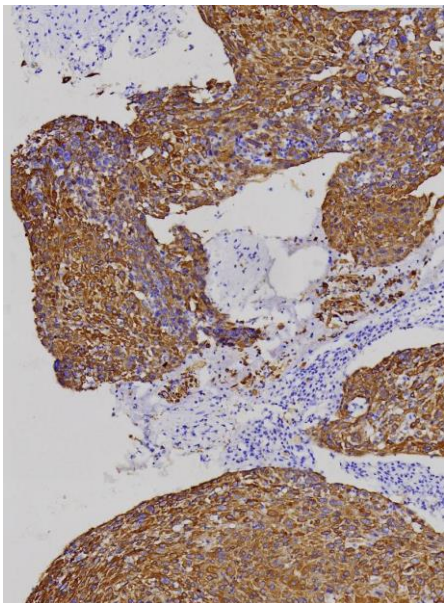


Инструкция по применению

Моноклональные кроличьи антитела к p16 (p16)



Каталожный номер	AR0179
Клон	SD98
Метод	ИГХ, парафиновые срезы
Реактивность	Человек. Другие не определены
Положительный контроль	Рак шейки матки
Окрашивание	Цитоплазматическое
Рекомендованный титр	1:50 – 1:150*
Рекомендованный буфер для демаскировки	ЭДТА pH 9,0*
Форма выпуска	Концентрированные антитела: 0,2 мл; 0,5 мл; 1 мл Готовые к использованию антитела: 3 мл; 6 мл
Разрешенное применение	Для научных целей
Хранение	2-8 градусов
Срок годности	18 мес. с даты производства

** При использовании системы детекции iVision One Step или iVision Two Step*

Антитела применяются для проведения иммуногистохимического исследования нормальных и неопластических тканей, фиксированных в формалине и залитых в парафин, с оценкой результата при помощи светового микроскопа.

Описание:

Белок p16 (p16INK4A) – ингибитор циклин-зависимой киназы (CDK), контролирующей переход между фазами G1 и S за счёт регуляции ретинобластомного белка, замедляет дифференцировку клеток и действует как супрессор опухолей.

Мутации в гене p16, связанные с потерей или избыточной экспрессией этого белка, связаны с повышенным риском развития широкого спектра новообразований, таких, как рак головы и шеи, перианальные поражения, меланомы, глиомы, лимфомы и некоторые типы лейкозов. p16 также определяется при карциномах пищевода, поджелудочной железы, легких, желчевыводящих путей, печени, толстой кишки и мочевого пузыря. Иммуногистохимическая идентификация p16 особенно важна при поражении шейки матки.

Реагенты, необходимые для проведения исследования:

Раствор для разведения антител для концентрированных антител	Концентрированные антитела необходимо развести перед применением согласно рекомендации производителя. Однако в связи с наличием в каждой лаборатории индивидуальных особенностей пользователь может подобрать оптимальное разведение под собственные условия при необходимости.
Раствор для восстановления антигенной активности	pH раствора необходимо подобрать согласно рекомендации производителя
Система визуализации	Соблюдение протокола окрашивания согласно рекомендации производителя

Инструкция по применению

Процедура ручного метода окрашивания:

1. Депарафинизировать и регидратировать срезы на предметных стеклах, используя гистологическую батарею ксилолов и спиртов. Промыть срезы дистиллированной водой в течение 30 сек.
2. Для блокировки ферментативной активности эндогенной пероксидазы инкубировать срезы в 3% растворе H_2O_2 при комнатной температуре в течение 5 минут. Промыть срезы дистиллированной водой в течение 30 сек.
3. Провести высокотемпературное восстановление антигенной активности препаратов в ЭДТА буфере с pH 9,0 при 95° - 98°C в течение 20 минут. Охладить срезы, не извлекая из буферного раствора, в течение 30 минут при комнатной температуре (при необходимости время можно увеличить). Промыть срезы промывочным буфером однократно в течение 3-5 мин.

Изменение порядка выполнения ПП. 2 и 3 (сначала демаскировка, затем блокировка эндогенной пероксидазы) не влияет на конечный результат окрашивания

4. Нанести первичные антитела на срез, инкубировать во влажной камере при комнатной температуре в течение 30 минут. Промыть срезы промывочным буфером трижды в течение 3 мин.
5. **5.1 При использовании системы детекции iVision One Step:**
 - Нанести полимер на срез, инкубировать во влажной камере при комнатной температуре в течение 30 минут. Промыть срезы промывочным буфером трижды в течение 3 мин.
 - Подготовить рабочий раствор ДАБ: смешать растворы DAB-A и DAB-B в пропорции 20:1
 - Нанести рабочий раствор ДАБ на срез, инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут. Промыть стёкла дистиллированной водой.
5. **5.2 При использовании системы детекции iVision Two Step:**
 - Нанести постблокирующий раствор (линкер) на срез, инкубировать во влажной камере при комнатной температуре в течение 15-20 минут. Промыть срезы промывочным буфером трижды в течение 3 мин.
 - Нанести полимер на срез, инкубировать во влажной камере при комнатной температуре в течение 15-20 минут. Промыть срезы промывочным буфером трижды в течение 3 мин.
 - Подготовить рабочий раствор ДАБ: смешать растворы DAB-A и DAB-B в пропорции 20:1
 - Нанести рабочий раствор ДАБ на срез, инкубировать при комнатной температуре в течение 5 минут. Промыть стёкла дистиллированной водой.
5. **5.3 При использовании иной системы детекции:**

Следовать протоколу производителя
6. Нанести гематоксилин на срез, инкубировать при комнатной температуре, время инкубации определяется в зависимости от желаемой степени контрастирования. Промыть проточной водой.
7. Использовать дифференцирующий раствор, время инкубации определяется в зависимости от желаемой степени контрастирования. Промыть проточной водой.
8. Дегидратировать срезы, используя гистологическую батарею спиртов и ксилолов, заключить срезы под покрывное стекло.
9. Оценить результат иммуногистохимического окрашивания с помощью светлопольного микроскопа.