

Mouse anti-Calretinin, Clone Z11-E3

For In Vitro Diagnostic Use

Lot No.

[] 18-0291 1.0 mL Concentrate Antibody
 [X] 08-1291 6.0 mL 2nd Gen Predilute Antibody, Ready-To-Use

INTENDED USE

For In Vitro Diagnostic Use

Invitrogen's monoclonal Mouse anti-Calretinin antibody is intended to qualitatively detect Calretinin in frozen and formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Interpretation must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

BACKGROUND

Calretinin, a calcium-binding protein with a molecular weight of 29 kD, is a member of the large family of EF-hand proteins that also include S-100 protein. EF-hand proteins are characterized by a helix-loop-helix fold that acts as the calcium-binding site. Calretinin contains six such EF-hand stretches⁽¹⁾. It is abundantly expressed in central and peripheral neural tissues especially in the retina and neurons of the sensory pathways^(4,5). Calretinin is also consistently expressed in normal and reactive mesothelial cell lining of all serosal membranes, eccrine glands of skin, convoluted tubules of kidney, Leydig and Sertoli cells of the testis, endometrium and ovarian stromal cells and adrenal cortical cells. Calretinin is also a sensitive and specific indicator of normal and reactive mesothelial cells in effusion cytology⁽²⁾.

This antibody is useful as part of an immunohistochemical marker panel to distinguish mesothelioma from adenocarcinoma. The combination of calretinin and E-Cadherin was shown to have high sensitivity and specificity in differentiating malignant mesothelioma from metastatic adenocarcinoma to the pleura in one study⁽³⁾.

REAGENT PROVIDED

Mouse anti-Calretinin is purified from mouse ascites fluid and diluted in phosphate buffered saline (PBS), pH 7.4, and 1% bovine serum albumin (BSA) with 0.1% sodium azide (NaN₃) as a preservative.

Immunogen: Full length recombinant mouse Calretinin protein Total protein concentration: g/L
Clone: Z11-E3 Isotype: IgG_{2b} Antibody concentration: mg/L

STORAGE: 2-8°C

POSITIVE CONTROL TISSUE: Mesothelioma

EXPECTED STAINING PATTERN: Nuclear and cytoplasmic

INSTRUCTIONS FOR USE

PRETREATMENT REQUIREMENTS:

Epitope Retrieval: Required (EDTA solution, pH 8.0) (See page 2 for protocol)
 Enzyme Digestion: Not Required

Mouse anti-Calretinin may be diluted according to Table 1 when using the Invitrogen detection systems below.

Table 1. Dilution Table

Invitrogen Kit	Predilute Antibody	Dilution for Concentrate	Incubation Time
Histostain-SP or SAP kits*	Ready-To-Use	1: 50 - 1: 100	60 min.
Histostain [®] -Plus Kits	Ready-To-Use	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Non-Biotin Amplification (NBA) [™] Kits	Ready-To-Use	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
PicTure [™] -Plus Polymer Kits	Ready-To-Use	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Cap-Plus [™] Kits	Ready-To-Use	1: 100 - 1: 200	30-60 min.

* Use **Histostain-SP or SAP kits only for Cat. No. 08-0XXX and 18-X001 to 18-X200 primary antibodies.**

This is a guideline only. Optimal antibody concentrations may vary based on specimen and preparation method used, and should be determined by each individual laboratory.

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI 08-1291

(Rev 08/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

SPECIMEN PREPARATION

1. Use tissue fixed in 10% neutral buffered formalin or other fixative on regular basis, or frozen tissue sections.
2. Cut 3-4 μm sections and place on positively charged slides.
3. Dry overnight at 37° C or for 2-4 hrs at 58°C.

PRETREATMENT

Heat Induced Epitope Retrieval (HIER), if required

1. Deparaffinize slides. Tissue sections should be mounted on silane, poly-L-Lysine, or HistoGrip (Cat. No. 00-8050) coated slides.
2. Wash slides with distilled water 3 times for 2 min each.
3. Place a 1L glass (Pyrex) beaker containing 500 mL of 0.01 M citrate buffer (Cat. No. 00-5000) or EDTA solution (Cat. No. 00-5500) on a hot plate. Heat the buffer solution until it boils. (*This step may be prepared before slide deparaffinization, as the buffer may take several minutes to boil.*)
4. Put the slides in a slide rack and place in the beaker with boiling buffer. Keep it boiling for 15 minutes.
5. After heating, remove beaker from the hot plate and allow it to cool down for at least 15-20 minutes at room temperature.
6. Rinse slides with PBS (Cat. No. 00-3000) and begin the immunostaining protocol.

Enzyme Digestion, if required

1. Prewarm the enzyme of choice at 37°C for 10 min.
2. Add the prewarmed enzyme to a tissue section and incubate at 37°C for 10 min.
3. Wash in several changes of PBS (Cat. No. 00-3000) and begin the immunostaining protocol.

RECOMMENDED MANUAL STAINING PROCEDURE

1. Submerge slides in peroxidase quenching solution and rinse with PBS.
2. Apply serum blocking solution.
3. Apply primary antibody and incubate for 30-60 min at room temperature; rinse with PBS.
4. Apply secondary antibody and incubate for 10 min at room temperature; rinse with PBS.
5. Apply enzyme conjugate and incubate for 10 min at room temperature; rinse with PBS.
6. Apply chromogen and incubate for 5-10 min at room temperature; rinse with PBS.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Reagent	Catalog No.
1. HistoGrip™	00-8050
2. Super PAP Pen	00-8899
3. Isotype Control for Rabbit or Mouse Primary Antibody	08-6199 or 08-6599
4. Antibody Diluent	00-3118
5. PBS (0.01 M PBS)	00-3000
6. Mayer's Hematoxylin	00-8011
7. Citrate Buffer pH 6.0 (if required for HIER)	00-5000
8. EDTA Solution (if required for HIER)	00-5500
9. Digest-All™ 1, Digest-All™ 2, or Digest-All™ 3 (if required for Enzyme Digestion)	00-3007 or 00-3008 or 00-3009
10. PicTure™-Plus polymer kit, NBA™ kit, or LAB-SA kit (Histostain®-Plus, and Cap-Plus™) (see Table 2).	
11. Chromogen/substrate (if not included in detection kit): Single Solution AEC (Cat. No. 00-1111), or DAB (Cat. No. 00-2014), or Fast-Red (Cat. No. 00-2234).	
12. Mounting solution: Histomount™ (for DAB: Cat. No.00-8030), GVA (for AEC, or Fast-Red: Cat. No. 00-8000), or Clearmount™ (for AEC, DAB, or Fast-Red: Cat. No. 00-8010).	

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI 08-1291

(Rev 08/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

RELATED PRODUCTS

Table 2. Invitrogen Immunohistochemistry Detection Kits.

Detection Kits	Enzyme	Chromogen	Size	1° Ab Reactivity	Invitrogen Cat. No.
Histostain [®] -Plus	HRP	AEC	15 mL	Broad Spectrum*	85-9943
Histostain [®] -Plus	HRP	AEC	15 mL	Mouse/Rabbit	85-6543/ 85-6143
Histostain [®] -Plus	HRP	DAB	15 mL	Broad Spectrum*	85-9643
Histostain [®] -Plus	HRP	DAB	15 mL	Mouse/Rabbit	85-9143/ 85-9243
Histostain [®] -Plus	AP	Fast-Red	15 mL	Broad Spectrum*	85-9942
Histostain [®] -Plus	AP	**	60 mL	Broad Spectrum*	85-8942
Histostain [®] -Plus	HRP	**	110 mL	Mouse	85-6643
Histostain [®] -Plus	HRP	**	110 mL	Rabbit	85-6743
Histostain [®] -Plus	HRP	**	110 mL	Broad Spectrum*	85-9043
Picture [™] -Plus Polymer Kit	HRP	AEC	15 mL	Broad Spectrum*	87-9963
Picture [™] -Plus Polymer Kit	HRP	DAB	15 mL	Broad Spectrum*	87-9663
Picture [™] -Plus Polymer Kit	HRP	DAB	15 mL	Mouse/Rabbit	87-9163/ 87-9263
Picture [™] -Plus Polymer Kit	HRP	**	110 mL	Broad Spectrum*	87-8963
Cap-Plus [™] Detection Kit	HRP	DAB	110 mL	Broad Spectrum*	87-8143
Cap- Plus [™] Buffer Kit	For use with Cap-Plus [™] Detection Kit				87-0003
NBA [™]	HRP	AEC	15 mL	Broad Spectrum*	85-3043
NBA [™]	HRP	DAB	15 mL	Broad Spectrum*	85-4043
NBA [™]	HRP	**	60 mL	Broad Spectrum*	85-3243
NBA [™]	HRP	**	110 mL	Broad Spectrum*	85-3943

*Detects mouse, rabbit, rat, and guinea pig primary antibodies

** Bulk kit does not contain Chromogen/Substrate

Table 3. Related Products

Product Name	Clone/PAD	Catalog Number
Mouse anti-Calretinin Concentrate	Z11-E3	18-0291
Rabbit anti-Calretinin Concentrate	DC8	18-0211
Mouse anti-E-Cadherin Concentrate	4A2C7	18-0223
Mouse anti-E-Cadherin	HECD-1	13-1700
Mouse anti-N-Cadherin Concentrate	3B9	18-0224
Mouse anti-E-Cadherin 2 nd Gen. Predilute	HECD-1	08-1222

REFERENCES

- Rogers J, et al. *Adv Exp Med Biol* 269:195-203, 1990.
 Nagel H, et al. *Pathol Res Pract* 194:759-764, 1998.
 1. Leers MPG, et al. *Histopath* 32:209-216, 1998.
 Andressen C, et al. *Cell Tissue Research* 271:181-208, 1993.
 Schwaller B, et al. *Cell Calcium* 14:639-648, 1993.

TRADEMARKS

Cap-Plus[™], Clearmount[™], Digest-All[™], HistoGrip[™], Histomount[™], Histostain[®], NBA[™], PicTure[™], and Zymed[®] are trademarks of Zymed Laboratories, Inc.

Authorized Representative for IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd.
 Inchinnan Business Park
 3 Fountain Drive
 Paisley
 PA4 9RF
 UK

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI 08-1291

(Rev 08/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Anticuerpo Calretinina de ratón, Clon Z11-E3

Para utilización en diagnóstico in vitro

[] 18-0291 1,0 mL de anticuerpo concentrado
 [X] 08-1291 6,0 mL de anticuerpo prediluido de segunda generación, listo para usar

PROPÓSITO DE USO

Para utilización en diagnóstico in vitro. Este anticuerpo Invitrogen tiene como objetivo tinar el antígeno en secciones de tejido congeladas e infiltradas en parafina. La interpretación de los resultados debe realizarla un patólogo cualificado, dentro del contexto de la historia clínica del paciente y otras pruebas diagnósticas.

REACTIVO SUMINISTRADO

El anticuerpo Calretinina de ratón se purifica a partir de fluido de ascitis en ratón y se diluye en tampón fosfato (PBS), Ph 7,4, y seroalbúmina bovina al 1% (BSA) con azida de sodio al 0,1% (NaN₃) como conservante.

Inmunogén: Proteína calretinina recombinante completa de ratón

Isotipo: IgG_{2b}

Clon: Z11-E3

Control positivo: Mesotelioma

Pauta de tinción esperada: citoplasma y núcleo

ALMACENAMIENTO: 2-8°C

INSTRUCCIONES DE USO

REQUISITOS PARA EL PRETRATAMIENTO

Eliminación del epítipo: Necesario (tampón de EDTA pH 8.0) (Ver protocolo en página 2)

Digestión enzimática: No necesaria

Se pueden diluir los anticuerpos calretinina de ratón según la Tabla 1 cuando se utilicen los sistemas de detección de Invitrogen que se presentan a continuación.

Tabla 1. Tabla de dilución

Paquete Invitrogen	Anticuerpo prediluido	Dilución para concentrado	Tiempo de incubación
Paquetes Histostain-SP o SAP *	Listo para uso	1: 50 - 1: 100	60 min.
Paquetes Histostain [®] -Plus	Listo para uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Paquete de amplificación sin biotina (NBA) TM	Listo para uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Paquete para polímeros PicTure TM -Plus	Listo para uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Paquetes Cap-Plus TM	Listo para uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.

*** Usar los paquetes Histostain-SP y SAP sólo para los anticuerpos primarios con n°. de catálogo 08-0XXX y del 18-X001 al 18-X200.**

Esto es sólo orientativo. Las concentraciones óptimas de anticuerpos pueden variar según las muestras y el método de preparación utilizado, y deberá ser determinado por cada laboratorio.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Utilizar tejido fijado en formalina neutra tamponada al 10% u otro fijador general, o cortes de tejido congelados. Hacer cortes de 3-4 μm y colocarlos sobre los portaobjetos cargados positivamente. Secar durante toda la noche a 37°C o de 2 a 4 horas a 58°C.

PRETRATAMIENTO

Eliminación de Epítoto Inducida por Calor (HIER), en caso necesario

Proceder con la desparafinación de las muestras. Los cortes de tejido deberían montarse sobre portaobjetos cubiertos de silano, poli-L-lisina o HistoGrip (nº. de cat. 00-8050).

Lavar los portaobjetos con agua destilada 3 veces, durante 2 minutos cada vez.

Poner un vaso de precipitados (Pyrex) de 1 litro con 500 mL de tampón de citrato 0,01 M (nº. de cat. 00-5000) o solución de EDTA (nº. de cat. 00-5500) en una placa de calor. Calentar la solución tampón hasta que hierva. (*Este paso se puede preparar antes de la desparafinación de los portaobjetos, puesto que pueden pasar varios minutos antes de que hierva el tampón*).

Colocar los portaobjetos en una rejilla de soporte para portaobjetos y ponerlos en el vaso de precipitados con el tampón hirviendo. Déjelo hervir durante 15 minutos.

Después de calentar, retire el vaso de precipitado de la placa de calor y déjelo que se enfríe a temperatura ambiente durante al menos 15 ó 20 minutos.

Enjuagar los portaobjetos con PBS (nº. de cat. 00-3000) y proceda con el protocolo de inmunotinción.

Digestión enzimática, en caso necesario

Calentar inicialmente el enzima de su elección a 37°C durante 10 minutos.

Añadir el enzima precalentado a un corte de tejido e incubar a 37°C durante 10 minutos.

Lavar en distintos baños de PBS (nº. de cat. 00-3000) y proceda con el protocolo de inmunotinción.

PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN MANUAL RECOMENDADO

Introducir los portaobjetos en una solución para la eliminación de la peroxidasa y enjuagar con PBS.

Añadir solución bloqueante con suero.

Añadir anticuerpo primario e incubar de 30 a 60 minutos a temperatura ambiente; enjuagar con PBS.

Añadir anticuerpo secundario e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente; enjuagar con PBS.

Añadir conjugado enzimático e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente; enjuagar con PBS.

Añadir cromógeno e incubar de 5 a 10 minutos a temperatura ambiente; enjuagar con PBS.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADO

Reactivo	Nº. de catálogo
• HistoGrip™	00-8050
• Súper Lápiz PAP	00-8899
• Control de isotipos para anticuerpos primarios de conejo o de ratón	08-6199 ó 08-6599
• Disolvente para anticuerpos	00-3118
• PBS (PBS 0,01 M)	00-3000
• Hematoxilina de Mayer	00-8011
• Tampón de citrato con pH 6,0 (en caso necesario para HIER)	00-5000
• Solución de EDTA (en caso necesario para HIER)	00-5500
• Digest-All™ 1, Digest-All™ 2 o Digest-All™ 3	
• (en caso de que se necesite para la digestión enzimática)	00-3007 ó 00-3008 ó 00-3009
• Paquete de polímeros <i>PicTure™-Plus</i> , paquete NBA™, o paquete LAB-SA (Histostain®- <i>Plus</i> , y Cap- <i>Plus</i> ™) (véase tabla 2).	
• Cromógeno/sustrato (cuando no venga incluido en el paquete de detección): <i>Solución simple</i> AEC (nº. de cat. 00-1111), o DAB (nº. de cat. 00-2014) o Fast-Red (nº. de cat. 00-2234).	
• Solución de montaje: Histomount™ (para DAB: nº. de cat. 00-8030), GVA (para AEC, o para Fast-Red: nº. de cat. 00-8000), o Clearmount™ (para AEC, DAB, o Fast Red: nº. de cat. 00-8010).	

MARCAS COMERCIALES

Cap-*Plus*™, Clearmount™, Digest-All™, HistoGrip™, Histomount™, y Histostain®, NBA™, *PicTure*™ y Zymed® son marcas comerciales de Zymed Laboratories, Inc.

Para obtener más información vea la versión inglesa de la ficha técnica o vaya a www.invitrogen.com.

TIENE ALGUNA PREGUNTA SOBRE ESTE PRODUCTO, DIRÍJASE A SU DISTRIBUIDOR LOCAL.

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI 08-1291

(Rev 08/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI 08-1291

(Rev 08/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Souris anti- Calrétinine, Clone Z11-E3

Pour Utilisation de Diagnostiques In Vitro

[] 18-0291 1.0 mL Anticorps Concentré
 [X] 08-1291 6.0 mL 2nd Gén Anticorps Prédilué, Prêt à l'Utilisation

UTILISATION VOULUE

Pour Utilisation de Diagnostiques In Vitro. Cet anticorps Invitrogen est destiné à colorer l'antigène dans des sections de tissu fixées dans du formol et incorporées dans de la paraffine. L'interprétation doit être faite par un pathologiste qualifié dans le cadre des antécédents cliniques du patient et d'autres tests de diagnostics.

REACTIF FOURNI

Souris anti-Calrétinine est purifié à partir de fluide ascite de souris et dilué dans du Phosphate Tamponné Salin (PBS), pH 7.4, et 1% d'albumine de sérum de bovin (BSA) avec 0.1% azide de sodium (NaN₃) comme préservatif.

Immunogène: Protéine calrétinine recombinante de pleine longueur de souris

Isotype: IgG_{2b}

Clone: Z11-E3

Contrôle Positif: Mésothéliome

Modèle de Coloration Attendue: Cytoplasmique et nucléaire

STOCKAGE: à 2-8°C

INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

PRETRAITEMENTS REQUIS:

Recherche d'Epitope: Requis (Tampon de EDTA pH 8.0) (Voir page 2 pour le protocole)

Enzyme de digestion: Pas requis

Souris anti- Calrétinine peut être dilué selon le Tableau 1 lors de l'utilisation des systèmes de détection Invitrogen ci-dessous.

Tableau 1. Tableau de Dilution

Équipement Invitrogen	Anticorps Prédilué	Dilution pour Concentré	Temps d'Incubation
Équipements Histocoloration-SP ou SAP*	Prêt à l'Utilisation.	1: 50 - 1: 100	60 min.
Histocoloration [®] -Équipements Plus	Prêt à l'Utilisation.	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Équipements d'Amplification Non-Biotine (NBA) [™]	Prêt à l'Utilisation.	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Équipements PicTure [™] -Plus Polymère	Prêt à l'Utilisation.	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Équipements Cap-Plus [™]	Prêt à l'Utilisation.	1: 100 - 1: 200	30-60 min.

*** Utiliser les équipements Histocoloration-SP or SAP seulement pour Cat. No. Anticorps primaires 08-0XXX et 18-X001 à 18-X200.**

Ce n'est qu'une directive. Les concentrations d'anticorps optimales peuvent varier selon le spécimen et la méthode de préparation utilisée, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement.

PREPARATION DE SPECIMENS :

Utiliser un tissu fixé dans 10% Formaline Neutre Tamponnée ou autres fixatifs de base normale, ou des sections gelées de tissu. Couper des sections 3-4 µm et placer sur des lames chargées positivement. Sécher toute la nuit à 37° C ou pendant 2-4 hrs à 58°C.

PRETRAITEMENT

Recherche d'Epitope de Chaleur par Induction (HIER), si nécessaire

Déparaffiner les lames. Les sections de tissu doivent être montées sur du silane, du poly-L-Lysine, ou du HistoGrip (Cat. No. 00-8050) lames enduites.

Laver les lames dans 3 bains d'eau distillée pendant 2 min chacun.

Placer un bécher en verre 1L (Pyrex) contenant 500 mL de 0.01 M tampon de citrate (Cat. No. 00-5000) ou solution d'EDTA (Cat. No. 00-5500) sur une plaque chauffante. Chauffer la solution de tampon jusqu'à ébullition. (*Cette étape doit être préparée antérieurement au déparaffinage des lames, car porter le tampon à ébullition peut prendre plusieurs minutes.*)

Mettre les lames sur une grille à lames et placer les dans le bécher avec le tampon en ébullition. Laisser bouillir pendant 15 minutes. Après l'échauffement, retirer le bécher de la plaque chauffante et laisser le refroidir pour au moins 15-20 minutes à température ambiante. Rincer les lames dans du PBS (Cat. No. 00-3000) et commencer le protocole d'immuno-coloration.

Enzyme de digestion, si nécessaire

Préchauffer l'enzyme choisi à 37°C pendant 10 min.

Ajouter l'enzyme préchauffé à la section de tissu et incubé à 37°C pendant 10 min.

Laver dans plusieurs bain de PBS. (Cat. No. 00-3000) et commencer le protocole d'immuno-coloration.

PROCEDURE RECOMMANDEE DE COLORATION MANUELLE

Plonger les lames dans une solution de perodydase refroidissant et rincer dans du PBS.

Appliquer une solution bloquante de sérum.

Appliquer un anticorps primaire et incubé pendant 30-60 min à température ambiante; rincer dans du PBS.

Appliquer un anticorps secondaire et incubé pendant 10 min à température ambiante; rincer dans du PBS.

Appliquer un enzyme conjugué et incubé pendant 10 min à température ambiante; rincer dans du PBS.

Appliquer un chromogène et incubé pendant 5-10 min à température ambiante; rincer dans du PBS

MATERIELS NECESSAIRES MAIS PAS FOURNIS

Réactif

HistoGrip™

Super PAP Pen

Contrôle Isotype pour anticorps primaire de lapin ou de souris

Anticorps Diluant

PBS (0.01 M PBS)

Mayer Hématoxyline

Tampon de Citrate pH 6.0 (**si nécessaire pour HIER**)

Solution d'EDTA (**si nécessaire pour HIER**)

Digesté-Lal™ 1, Digesté-Lal™ 2, ou Digesté-Lal™ 3

(**si nécessaire pour Digestion d'Enzyme**)

PicTure™-Equipement *Plus* polymer, Equipement NBA™, ou Equipement LAB-SA (Histocoloration®-*Plus*, et *Cap-Plus™*) (voir Tableau 2).

Chromogène/substrat (si pas inclus dans l'équipement de détection) : *Solution Unique* AEC (Cat. No. 00-1111), ou DAB (Cat. No. 00-2014), or Fast-Red (Cat. No. 00-2234).

Solution de Monture: Histomount™ (pour DAB : Cat. No.00-8030), GVA (pour AEC, ou Rouge-Fixe : Cat. No. 00-8000), ou Clearmount™ (pour AEC, DAB, ou Rouge-Fixe : Cat. No. 00-8010).

Catalogue No.

00-8050

00-8899

08-6199 ou 08-6599

00-3118

00-3000

00-8011

00-5000

00-5500

00-3007 ou 00-3008 ou 00-3009

MARQUE DE FABRIQUE

Cap-*Plus™*, Clearmount™, Digest-All™, HistoGrip™, Histomount™, et Histostain®, NBA™, *PicTure™*, et Zymed® sont des marques des Zymed Laboratories, Inc.

Pour des informations plus détaillées, veuillez vous référer aux feuilles de données en version anglaise ou aller sur www.invitrogen.com.

SI VOUS AVEZ DES QUESTIONS SUR CE PRODUIT CONTACTEZ VOTRE DISTRIBUTEUR LOCAL.

Représentant Autorisé pour IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd., Inchinnan Business Park, 3 Fountain Drive, Paisley, PA4 9RF, UK

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI 08-1291

(Rev 08/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Topo anti-Calretinina, Clone Z11-E3

Per uso diagnostico In Vitro

[] 18-0291 1.0 mL di anticorpo concentrato
 [X] 08-1291 6.0 mL di 2nd Gen Anticorpo Prediluito, Pronto all'uso

SCOPI D'UTILIZZO

Per uso diagnostico In Vitro. Il presente anticorpo della Invitrogen è da usarsi per la colorazione dell'antigene in sezioni tissutali congelate fissate in formalina ed incluse in paraffina. L'interpretazione deve essere effettuata da un patologo qualificato entro il contesto dell'anamnesi clinica del paziente ed in considerazione di altri test diagnostici.

REAGENTI FORNITI

Topo anti-Calretinina viene purificato da liquido ascitico di topo e diluito in soluzione salina tamponata al fosfato (PBS), pH 7,4, e 1% di albumina di siero bovino (BSA) con 0,1% sodio azide (NaN₃) come conservante.

Immunogeno: Proteina di Calretinina ricombinante di lunghezza completa di topo.

Isotipo: IgG_{2b}

Clone: Z11-E3

Controllo positivo: Mesotelioma

Modello di colorazione previsto: Citoplasmatica e nucleare

CONSERVAZIONE: 2-8 °C

ISTRUZIONI PER L'USO

REQUISITI DI PRE-TRATTAMENTO:

Recupero di epitopi: Richiesto (tamponi EDTA pH 8.0) (vedere pag. 2 per il protocollo)

Digestione enzimatica : Non richiesto

Topo anti-Calretinina può essere diluito secondo la Tabella 1 quando si utilizzano i sistemi di rilevazione Invitrogen indicati sotto.

Tabella 1. Tabella di diluizione

Kit Invitrogen	Anticorpo prediluito	Diluizione per concentrato	Tempo di incubazione
Kit Histostain-SP oppure SAP*	Pronto all'uso	1: 50 - 1: 100	60 min.
Kit Histostain [®] -Plus	Pronto all'uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Kit di Amplificazione Non-Biotinica (NBA) [™]	Pronto all'uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Kit PicTure [™] -Plus Polymer	Pronto all'uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Kis Cap-Plus [™]	Pronto all'uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.

*** Utilizzare kits Histostain-SP oppure SAP esclusivamente per Cat. n. 08-0XXX e per anticorpi primari da 18-X001 a 18-X200.**

Queste indicazioni rappresentano soltanto una guida di massima. Concentrazioni ottimali di anticorpo possono variare in base al campione e al metodo di preparazione utilizzato, e dovrebbero pertanto essere determinate individualmente da ciascun laboratorio.

PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

- Utilizzare regolarmente tessuto fissato in 10% formalina neutra tamponata oppure in altro fissativo, o in alternativa sezioni di tessuto congelato. Tagliare sezioni da 3-4 µm e collocarle su vetrini caricati positivamente.
- Lasciare asciugare durante la notte a 37 ° C oppure per 2-4 ore a 58 °C.

PRETRATTAMENTO

Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) (Recupero di epitopi mediante calore) se richiesto

- Deparaffinizzare i vetrini. Le sezioni dei tessuti dovrebbero essere montate su vetrini rivestiti di silano, poly-L-Lysine, oppure HistoGrip (Cat. n. 00-8050).
- Lavare i vetrini con acqua distillata per 3 per 2 min. ciascuno.
- Collocare un beker di vetro (Pyrex) da 1L contenente 500 mL di 0,01 M tampone citrato (Cat. n. 00-5000) o soluzione EDTA (Cat. No. 00-5500) su una piastra scaldante. Riscaldare la soluzione tampone sino a quando bolle. (*Questo passaggio può essere preparato prima della deparaffinizzazione del vetrino, poiché il tampone può richiedere diversi minuti per raggiungere il punto di ebollizione*).

Collocare i vetrini in un rack scorrevole e metterli nel beker con tampone bollente. Far bollire per 15 minuti.

Dopo il riscaldamento, togliere il beker dalla piastra scaldante e far raffreddare per almeno 15-20 minuti a temperatura ambiente.

- Risciacquare i vetrini con PBS (Cat. n. 00-3000) ed iniziare il protocollo di immunocolorazione.

Digestione Enzimatica, se richiesto

1. Preriscaldare l'enzima scelto a 37 °C per 10 min.
2. Aggiungere l'enzima preriscaldato ad una sezione di tessuto ed incubare a 37 °C per 10 min.
3. Lavare effettuando diversi cambi di PBS (Cat. n. 00-3000) ed iniziare il protocollo di immunocolorazione.

PROCEDURA DI COLORAZIONE MANUALE RACCOMANDATA

1. Immergere i vetrini in soluzione quenching di perossidasi e risciacquare con PBS.
2. Applicare soluzione siero bloccante.
3. Applicare Anticorpo primario ed incubare per 30-60 min a temperatura ambiente; risciacquare con PBS.
4. Applicare Anticorpo secondario ed incubare per 10 min a temperatura ambiente; risciacquare con PBS.
5. Applicare enzima coniugato ed incubare per 10 min a temperatura ambiente; risciacquare con PBS.
6. Applicare cromogeno ed incubare per 5-10 min a temperatura ambiente; risciacquare con PBS.

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Reagente	Catalogo n.
1. HistoGrip™	00-8050
2. Super PAP Pen	00-8899
3. Controllo dell'isotipo per anticorpo primario di coniglio o topo	08-6199 o 08-6599
4. Anticorpo diluente	00-3118
5. PBS (0,01 M PBS)	00-3000
6. Ematossilina di Mayer	00-8011
7. Tampone citrato pH 6.0 (se richiesto per HIER)	00-5000
8. Soluzione EDTA (se richiesto per HIER)	00-5500
9. Digest-All™ 1, Digest-All™ 2, o Digest-All™ 3 (se richiesto per digestione enzimatica)	00-3007 oppure 00-3008 oppure 00-3009
10. <i>Kit di polimeri PicTure™-Plus, NBA™ kit, o LAB-SA kit (Histostain®-Plus, e Cap-Plus™) (cfr. Tabella 2).</i>	
11. Cromogeno/substrato (se non incluso nel kit per il rilevamento): <i>Soluzione singola AEC (Cat. No. 00-1111), oppure DAB (Cat. n. 00-2014), oppure rosso solido (Cat. n. 00-2234).</i>	
12. Soluzione montante: Histomount™ (per DAB: Cat. n.00-8030), GVA (per AEC, oppure rosso solido: Cat. n. 00-8000), oppure Clearmount™ (per AEC, DAB, oppure rosso solido: Cat. n. 00-8010).	

MARCHI REGISTRATI

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI 08-1291

(Rev 08/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Cap-Plus™, Clearmount™, Digest-All™, HistoGrip™, Histomount™, e Histostain®, NBA™, PicTure™, e Zymed® sono marchi registrati di Zymed Laboratories, Inc.

**Per informazioni più dettagliate vi preghiamo di consultare la versione inglese del catalogo oppure visitate il sito www.invitrogen.com.
SE AVETE DOMANDE SUL PRODOTTO, CONTATTATE IL VOSTRO DISTRIBUTORE PIÙ VICINO.**

Rappresentante Autorizzato per IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd., Inchinnan Business Park, 3 Fountain Drive, Paisley, PA4 9RF, UK

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI 08-1291

(Rev 08/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Maus Anti-Calretinin, Klon Z11-E3

Für In Vitro Diagnostischen Gebrauch

[] 18-0291 1.0 mL Konzentrat Antikörper
 [X] 08-1291 6.0 mL 2nd Gen Vorverdünnter Sie Antikörper, Gebrauchsfertig

BEABSICHTIGTER NUTZEN

Für In Vitro Diagnostischem Gebrauch. Dieser Antikörper von Invitrogen ist zur Färbung des Antigens in gefrorenen und formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitten vorgesehen. Die Interpretation muss im Zusammenhang mit der klinischen Vorgeschichte des Patienten und anderen Diagnostiktests eines qualifizierten Pathologen vorgenommen werden.

REAGENS GELIEFERT

Maus Anti-Calretinin ist gereinigt von Maus asciter Flüssigkeit und verdünnt in Phosphatgepufferter Salzlösung (PBS), pH 7.4, und 1%igem Rinder Serum Albumin (BSA) mit 0.1% Natrium Azide (NaN₃) als ein Konservierungsmittel.

Immunogen: Rekombinantes Mäuse-Calretininprotein mit voller Länge.

Isotyp: IgG_{2b}

Klon: Z11-E3

Positive Kontrolle: Mesotheliom

Erwartetes Färbungsmuster: Cytoplasmatisch und Kern

LAGERUNG: 2-8°C

BENUTZUNGSANLEITUNG

VORBEHANDLUNGS ERFORDERNISSE

Epitop Wiedergewinnung : Erforderlich (EDTA Puffer pH 8.0) (Siehe Seite 2 für Protokoll)

Enzym Verdauung: Nicht benötigt

Maus Anti-Calretinin kann entsprechend Verzeichnis 1 verdünnt werden, wenn das Invitrogen Nachweis System unten benutzt wird.

Tabelle 1. Verdünnungs Verzeichnis

Invitrogen Kit	Vorverdünnter Antikörper	Verdünnung für Konzentrat	Inkubationszeit (Min.)
Histostain-SP oder SAP Kits*	gebrauchsfertig.	1: 50 - 1: 100	60 Min.
Histostain [®] -Plus Kits	gebrauchsfertig.	1: 100 - 1: 200	30-60 Min.
Nicht-Biotin Verstärkungs (NBA) TM Kits	gebrauchsfertig.	1: 100 - 1: 200	30-60 Min.
PicTure TM -Plus Polymer Kits	gebrauchsfertig.	1: 100 - 1: 200	30-60 Min.
Cap-Plus TM Kits	gebrauchsfertig.	1: 100 - 1: 200	30-60 Min.

*** Benutzen Sie Histostain-SP oder SAP Kits nur für Cat. Nr. 08-0XXX und 18-X001 bis 18-X200 Primäre Antikörper.**

Dies ist nur eine Richtlinie. Optimale Antikörper Konzentrationen können variieren, basierend auf benutzten Proben und Präparationsmethoden und sollten von jedem individuellen Laboratorium bestimmt werden.

PROBEN PRÄPARATION

1. Gewebe in 10%igem neutral gepufferten Formalin fixiert oder anderen Fixiermitteln auf regelmäßiger Basis benutzen
oder gefrorene Gewebesektionen. 3-4 µm Sektionen schneiden und sie auf positiv gesättigte Objektträger legen.
2. Über Nacht bei 37° C trocknen oder für 2-4 Std. bei 58°C.
- 3.
4. VORBEHANDLUNG

Hitze Induzierte Epitop Wiedergewinnung (HIER), wenn erforderlich

Objektträger deparaffinisieren. Gewebesektionen sollten auf Silane, Poly-L-Lysine oder HistoGrip präpariert werden (Cat. Nr. 00-8050) beschichtete Objektträger.

Objektträger mit destilliertem Wasser für jeweils 2 Min. waschen.

Ein 1L Becherglas (Pyrex), das 500 mL von 0.01 M Citrat Puffer (Cat. Nr. 00-5000) oder EDTA Lösung (Cat. Nr. 00-5500) enthält auf eine heiße Platte legen. Die Pufferlösung erhitzen bis sie kocht. *(Dieser Schritt kann vor der Objektträger Deparaffinisierung vorbereitet werden, da der Puffer mehrere Minuten braucht, bevor er kocht.)*

Die Objektträger in ein Objektträrgestell setzen und das Becherglas mit dem kochenden Puffer plazieren. Es 15 Minuten kochen lassen.

Nach der Erhitzung das Becherglas von der heissen Platte entfernen und es für mindestens 15-20 Minuten bei Zimmertemperatur abkühlen lassen.

Die Objektträger mit PBS (Cat. Nr. 00-3000) spülen und das Immunofärbungs-Protokoll beginnen.

Enzym-Verdauung, wenn benötigt

Das Enzym der Wahl bei 37°C für 10 Min. vorwärmen

Das vorwärmte Enzym auf eine Gewebesektion geben und bei 37°C für 10 Min. inkubieren.

In mehreren Wechseln von PBS (Cat. Nr. 00-3000) waschen und das Immunofärbungsprotokoll beginnen.

EMPFOHLENES MIT DER HAND FÄRBUNGSVERFAHREN

Die Objektträger in Peroxidase Lösungslösung tauchen und mit PBS spülen.

Die Serums-Blockierungslösung dazugeben.

Primären Antikörper dazugeben und für 30-60 Min. bei Zimmertemperatur inkubieren; mit PBS spülen.

Sekundären Antikörper dazugeben und für 10 Min. bei Zimmertemperatur inkubieren; mit PBS spülen.

Enzymkonjugat dazugeben und für 10 Min. bei Zimmertemperatur inkubieren; mit PBS spülen.

Chromogen dazugeben und für 5-10 Min. bei Zimmertemperatur inkubieren; mit PBS spülen.

BENÖTIGTE, ABER NICHT GELIEFERTE MATERIALIEN

Reagens	Katalog Nr.
HistoGrip™	00-8050
Super PAP Pen	00-8899
Isotyp Kontrolle für Primären Antikörper von Kaninchen oder Maus	08-6199 oder 08-6599
Antikörper Verdünner	00-3118
PBS (0.01 M PBS)	00-3000
Mayer's Haematoxylin	00-8011
Citrat Puffer pH 6.0 (wenn für HIER benötigt)	00-5000
EDTA Lösung (wenn benötigt für HIER)	00-5500
Digest-All™ 1, Digest-All™ 2, oder Digest-All™ 3 (Wenn benötigt für Enzym Verdauung)	00-3007, 00-3008 oder 00-3009
PicTure™-Plus Polymer Kit, NBA™ Kit, oder LAB-SA Kit (Histostain®-Plus, und Cap-Plus™) (siehe Verzeichnis 2).	
Chromogen/Substrat (wenn nicht im Nachweis Kit inbegriffen): Einzel Lösung AEC (Cat. Nr. 00-1111), oder DAB (Cat. Nr. 00-2014), oder Lichtstark-Rot (Cat. Nr. 00-2234).	
Präparierungslösung: Histomount™ (für DAB: Cat. No.00-8030), GVA (für AEC, oder Lichtstark-Rot: Cat. Nr. 00-8000), oder Clearmount™ (für AEC, DAB, oder Lichtstark-Rot: Cat. Nr. 00-8010).	

WARENZEICHEN

Cap-Plus™, Clearmount™, Digest-All™, HistoGrip™, Histomount™, und Histostain®, NBA™, PicTure™, und Zymed® sind Warenzeichen der Zymed Laboratories, Inc.

Für genauere Information beziehen Sie sich bitte entweder auf die englische Version auf der Datenplatte oder auf www.invitrogen.com.

SOLLTEN SIE IRGENDWELCHE FRAGEN ÜBER DIESES PRODUKT HABEN, WENDEN SIE SICH BITTE AN IHREN ÖRTLICHEN VERTEILER.

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI 08-1291

(Rev 08/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI 08-1291

(Rev 08/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.