

## Mouse anti-Bcl-6 Clone P1F6

For In Vitro Diagnostic Use  
Lot No.

[X] 08-1426 6.0 mL 2<sup>nd</sup>Gen Predilute Antibody, Ready-To-Use

### INTENDED USE

For In Vitro Diagnostic Use

Invitrogen's monoclonal Mouse anti-Bcl-6 antibody is intended to qualitatively stain Bcl-6 in 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

Bcl-6 is a POZ/zinc finger protein that binds to specific DNA sequences of target genes and acts as a transcriptional repressor.<sup>1</sup> The expression of Bcl-6 is largely restricted to germinal center (GC) B cells, and is also required for GC formation and T-cell-mediated immune response.<sup>2</sup> High Bcl-6 expression is limited to cells of the B-lymphoid lineage and skeletal muscle. In the B-lymphoid cell lineage, Bcl-6 expression seems to be tightly regulated during differentiation, and strong expression is observed preferentially in GC B cells, but not in plasma cells, precursor, mantle zone, nor memory B cells.<sup>2</sup>

Bcl-6 is a useful tool for differentiating proliferating centers in B-cell chronic lymphocytic lymphomas (BCL2+/BCL6-) from trapped germinal centers in mantle cell lymphomas (BCL2-/BCL6+), and for identifying neoplastic cells in cases of nodular, lymphocyte-predominance Hodgkin's disease.<sup>3</sup> Differential identification is aided by the results from a panel of antibodies (i.e. in conjunction with CDw75 and CD10.)<sup>3</sup> Mantle cell lymphoma is routinely considered a Bcl-6-negative lymphoma.<sup>4</sup>

### REAGENT PROVIDED

Mouse anti-Bcl-6 is derived from cell culture supernatant and diluted in phosphate buffered saline (PBS), pH 7.4, and 1% bovine serum albumin (BSA) with 0.1% sodium azide (NaN<sub>3</sub>) as a preservative.

Immunogen: Recombinant protein corresponding to the human Bcl-6 protein  
Clone: P1F6

Total protein concentration: g/L  
Antibody concentration: mg/L

Isotype: IgG<sub>1</sub>-kappa

STORAGE: 2-8°C

POSITIVE CONTROL TISSUE: Tonsil

EXPECTED STAINING PATTERN: Nuclear

### INSTRUCTIONS FOR USE

#### PRETREATMENT REQUIREMENTS:

Epitope Retrieval: Required, EDTA, pH 8.0 (see page 2)  
Enzyme Digestion: Not Required

Mouse anti-Bcl-6 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 <sup>®</sup> -Plus Kits	Ready-To-Use	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
SuperPicTure <sup>™</sup> Polymer Kits	Ready-To-Use	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Cap-Plus <sup>™</sup> 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.

## 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  $\mu\text{m}$  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

<b>Reagent</b>	<b>Catalog No.</b>
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. SuperPicTure™ polymer 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).	

## REFERENCES

1. Nakamura Y. *Leuk Lymphoma* 38(5-6):505-12, 2000.
2. Ye BH, et al. *Nat Genet* 16(2):161-70, 1997.
3. Dunphy CH, et al. *Leuk Lymphoma* 41(5-6):585-92, 2001.
4. Camacho FI, et al. *Am J Surg Pathol* 28(8):1051-6, 2004.

## TRADEMARKS

Cap-Plus™, Clearmount™, Digest-All™, HistoGrip™, Histomount™, and Histostain®, SuperPicTure™, 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](http://www.invitrogen.com)

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

PI 08-1426

(Rev 09/09) DCC-09-1290

© 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](http://www.invitrogen.com)). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

## Anticuerpo Bcl-6 de ratón, Clon P1F6

Para utilización en diagnóstico in vitro

[X] 08-1426 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 CD31 de ratón se deriva del sobrenadante de la cultura célula y se diluye en tampón fosfato (PBS), Ph 7,4, y seroalbúmina bovina al 1% (BSA) con azida de sodio al 0,1% (NaN<sub>3</sub>) como conservante.

Inmunogén: Proteínas recombinantes de la Bcl-6 humana

Isotipo: IgG<sub>1</sub>-kappa

Clon: P1F6

Control positivo: Amígdala

Pauta de tinción esperada: Nuclear

ALMACENAMIENTO: 2-8°C

### INSTRUCCIONES DE USO

#### REQUISITOS PARA EL PRETRATAMIENTO

Eliminación del epítopo: Necesaria (Solución de EDTA pH 8.0) (Ver protocolo en página 2)

Digestión enzimática: No necesario

Se pueden diluir los anticuerpos Bcl-6 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 para polímeros SuperPicTure™	Listo para uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Paquetes Cap-Plus™	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

1. Utilizar tejido fijado en formalina neutra tamponada al 10% u otro fijador general, o cortes de tejido congelados.
2. Hacer cortes de 3-4 µm y colocarlos sobre los portaobjetos cargados positivamente.
3. 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**

1. 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).
2. Lavar los portaobjetos con agua destilada 3 veces, durante 2 minutos cada vez.
3. 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*).
4. 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.
5. 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.
6. Enjuagar los portaobjetos con PBS (nº. de cat. 00-3000) y proceda con el protocolo de inmunotinción.

### **Digestión enzimática, en caso necesario**

1. Calentar inicialmente el enzima de su elección a 37°C durante 10 minutos.
2. Añadir el enzima precalentado a un corte de tejido e incubar a 37°C durante 10 minutos.
3. Lavar en distintos baños de PBS (nº. de cat. 00-3000) y proceda con el protocolo de inmunotinción.

## PROCEDIMIENTO DE TINCIÓN MANUAL RECOMENDADO

1. Introducir los portaobjetos en una solución para la eliminación de la peroxidasa y enjuagar con PBS.
2. Añadir solución bloqueante con suero.
3. Añadir anticuerpo primario e incubar de 30 a 60 minutos a temperatura ambiente; enjuagar con PBS.
4. Añadir anticuerpo secundario e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente; enjuagar con PBS.
5. Añadir conjugado enzimático e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente; enjuagar con PBS.
6. Añadir cromógeno e incubar de 5 a 10 minutos a temperatura ambiente; enjuagar con PBS.

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADO

<b>Reactivo</b>	<b>Nº. de catálogo</b>
1. HistoGrip™	00-8050
2. Súper Lápiz PAP	00-8899
3. Control de isotipos para anticuerpos primarios de conejo o de ratón	08-6199 ó 08-6599
4. Disolvente para anticuerpos	00-3118
5. PBS (PBS 0,01 M)	00-3000
6. Hematoxilina de Mayer	00-8011
7. Tampón de citrato con pH 6,0 ( <b>en caso necesario para HIER</b> )	00-5000
8. Solución de EDTA ( <b>en caso necesario para HIER</b> )	00-5500
9. Digest-All™ 1, Digest-All™ 2 o Digest-All™ 3 ( <b>en caso de que se necesite para la digestión enzimática</b> )	00-3007 ó 00-3008 ó 00-3009
10. Paquete de polímeros <i>SuperPicTure</i> ™ o paquete LAB-SA (Histostain®-Plus, y Cap-Plus™) (véase tabla 2).	
11. 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).	
12. 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](http://www.invitrogen.com).**

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

Representante autorizado de IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd., Inchinnan Business Park, 3 Fountain Drive, Paisley, PA4 9RF, UK

[www.invitrogen.com](http://www.invitrogen.com)

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

PI 08-1426

(Rev 09/09) DCC-09-1290

© 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](http://www.invitrogen.com)). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

## Souris anti-Bcl-6, Clone P1F6

Pour Utilisation de Diagnostiques In Vitro

[X] 08-1426 6.0 mL 2<sup>nd</sup> 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 ou des sections gelées de tissu. 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-Bcl-6 est dérivé d'un surnageant d'une culture de cellules 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 (NaN<sub>3</sub>) comme préservatif.

Immunogène: Protéine rec de Bcl-6 humain

Isotype: IgG<sub>1</sub>-kappa

Clone: P1F6

Contrôle Positif: Amygdale

Modèle de Coloration Attendue: Nucléaire

STOCKAGE: à 2-8°C

### INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

#### PRETRAITEMENTS REQUIS :

Recherche d'Epitope: Requis (Solution d'EDTA pH 8.0) (Voir page 2 pour le protocole)  
Enzyme de digestion: Pas requis

Souris anti-Bcl-6 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 <sup>®</sup> -Équipements Plus	Prêt à l'Utilisation.	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Équipements SuperPicTure <sup>™</sup> Polymère	Prêt à l'Utilisation.	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Équipements Cap-Plus <sup>™</sup>	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 :

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

## PRETRAITMENT

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

1. 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.
2. Laver les lames dans 3 bains d'eau distillée pendant 2 min chacun.
3. 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*).
4. Mettre les lames sur une grille à lames et placer les dans le bécher avec le tampon en ébullition. Laisser bouillir pendant 15 minutes.
5. Après l'échauffement, retirer le bécher de la plaque chauffante et laisser le refroidir pour au moins 15-20 minutes à température ambiante.
6. Rincer les lames dans du PBS (Cat. No. 00-3000) et commencer le protocole d'immuno-coloration.

### **Enzyme de digestion, si nécessaire**

1. Préchauffer l'enzyme choisi à 37°C pendant 10 min.
2. Ajouter l'enzyme préchauffé à la section de tissu et incuber à 37°C pendant 10 min.
3. Laver dans plusieurs bain de PBS. (Cat. No. 00-3000) et commencer le protocole d'immuno-coloration.

## PROCEDURE RECOMMANDEE DE COLORATION MANUELLE

1. Plonger les lames dans une solution de perodydase refroidissant et rincer dans du PBS.
2. Appliquer une solution bloquante de sérum.
3. Appliquer un anticorps primaire et incuber pendant 30-60 min à température ambiante; rincer dans du PBS.
4. Appliquer un anticorps secondaire et incuber pendant 10 min à température ambiante; rincer dans du PBS.
5. Appliquer un enzyme conjugué et incuber pendant 10 min à température ambiante; rincer dans du PBS.
6. Appliquer un chromogène et incuber pendant 5-10 min à température ambiante; rincer dans du PBS

## MATERIELS NECESSAIRES MAIS PAS FOURNIS

### **Réactif**

- |   | <b>Catalogue No.</b>          |
|---|-------------------------------|
| 1. HistoGrip™   | 00-8050                       |
| 2. Super PAP Pen  | 00-8899                       |
| 3. Contrôle Isotype pour anticorps primaire de lapin ou de souris   | 08-6199 ou 08-6599            |
| 4. Anticorps Diluant  | 00-3118                       |
| 5. PBS (0.01 M PBS)   | 00-3000                       |
| 6. Mayer Hématoxyline   | 00-8011                       |
| 7. Tampon de Citrate pH 6.0 ( <b>si nécessaire pour HIER</b> )  | 00-5000                       |
| 8. Solution d'EDTA ( <b>si nécessaire pour HIER</b> )   | 00-5500                       |
| 9. Digesté-Lal™ 1, Digesté-Lal™ 2, ou Digesté-Lal™ 3<br>( <b>si nécessaire pour Digestion d'Enzyme</b> )  | 00-3007 ou 00-3008 ou 00-3009 |
| 10. SuperPicTure™-Equipement Plus polymer, ou Equipement LAB-SA (Histocoloration®-Plus, et Cap-Plus™)<br>(voir Tableau 2).  |                               |
| 11. Chromogène/substrat (si pas inclus dans l'équipement de détection) : <i>Solution Unique</i> AEC (Cat. No. 00-1111),<br>ou DAB (Cat. No. 00-2014), or Fast-Red (Cat. No. 00-2234).     |                               |
| 12. Solution de Monture: Histomount™ (pour DAB : Cat. No.00-8030), GVA (pour AEC, ou Rouge-Fixe : Cat. No.<br>00-8000), ou Clearmount™ (pour AEC, DAB, ou Rouge-Fixe : Cat. No. 00-8010). |                               |

### 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](http://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](http://www.invitrogen.com)

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

## Topo anti-Bcl-6, Clone P1F6

Per uso diagnostico In Vitro

[X] 08-1426 6.0 mL di 2<sup>nd</sup> 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-Bcl-6 è derivato da supernatante di coltura delle cellule 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 (NaN<sub>3</sub>) come conservante.

Immunogeno: Proteine recettori dell' Bcl-6 umano

Isotipo: IgG<sub>1</sub>-kappa

Clone: P1F6

Controllo positivo: Tonsille

Modello di colorazione previsto: Nucleare

CONSERVAZIONE: 2-8 °C

### ISTRUZIONI PER L'USO

#### REQUISITI DI PRE-TRATTAMENTO:

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

Digestione enzimatica: Non richiesto

Topo anti-Bcl-6 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 <sup>®</sup> -Plus	Pronto all'uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Kit SuperPicTure <sup>™</sup> Polymer	Pronto all'uso	1: 100 - 1: 200	30-60 min.
Kis Cap-Plus <sup>™</sup>	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

1. Utilizzare regolarmente tessuto fissato in 10% formalina neutra tamponata oppure in altro fissativo, o in alternativa sezioni di tessuto congelato.
2. Tagliare sezioni da 3-4 µm e collocarle su vetrini caricati positivamente.
3. 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**

1. Deparaffinizzare i vetrini. Le sezioni dei tessuti dovrebbero essere montate su vetrini rivestiti di silano, poly-L-Lysine, oppure HistoGrip (Cat. n. 00-8050).
2. Lavare i vetrini con acqua distillata per 3 per 2 min. ciascuno.
3. 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*).
4. Collocare i vetrini in un rack scorrevole e metterli nel beker con tampone bollente. Far bollire per 15 minuti.
5. Dopo il riscaldamento, togliere il beker dalla piastra scaldante e far raffreddare per almeno 15-20 minuti a temperatura ambiente.
6. 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

<b>Reagente</b>	<b>Catalogo n.</b>
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. Kit di polimeri SuperPicTure™, o LAB-SA kit (Histostain®-Plus, e Cap-Plus™) (cfr. Tabella 2).	
11. Cromogeno/substrato (se non incluso nel kit per il rilevamento): Soluzione singola AEC (Cat. No. 00-1111), oppure DAB (Cat. n. 00-2014), oppure rosso solido (Cat. n. 00-2234).	
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

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](http://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](http://www.invitrogen.com)

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



## Maus Anti-Bcl-6, Klon P1F6

Für In Vitro Diagnostischen Gebrauch

[X] 08-1426 6.0 mL 2<sup>nd</sup> 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-Bcl-6 wird aus Zellkultur-Supernatant abgeleitet und verdünnt in Phosphatpufferter Salzlösung (PBS), pH 7.4, und 1%igem Rinder Serum Albumin (BSA) mit 0.1% Natrium Azide (NaN<sub>3</sub>) als ein Konservierungsmittel.

Immunogen: Humanen Bcl-6 repräsentierende rekombinantes proteine

Isotyp: IgG<sub>1</sub>-kappa

Klon: P1F6

Positive Kontrolle: Mandel

Erwartetes Färbungsmuster: Kern

LAGERUNG: 2-8°C

### BENUTZUNGSANLEITUNG

#### VORBEHANDLUNGS ERFORDERNISSE

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

Enzym Verdauung: Nicht benötigt

Maus Anti-Bcl-6 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 <sup>®</sup> -Plus Kits	gebrauchsfertig.	1: 100 - 1: 200	30-60 Min.
SuperPicTure <sup>™</sup> Polymer Kits	gebrauchsfertig.	1: 100 - 1: 200	30-60 Min.
Cap-Plus <sup>™</sup> 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.
2. 3-4 µm Sektionen schneiden und sie auf positiv gesättigte Objektträger legen.
3. Über Nacht bei 37° C trocknen oder für 2-4 Std. bei 58°C.

## VORBEHANDLUNG

### **Hitze Induzierte Epitop Wiedergewinnung (HIER), wenn erforderlich**

1. Objektträger deparaffinisieren. Gewebesektionen sollten auf Silane, Poly-L-Lysine oder HistoGrip präpariert werden (Cat. Nr. 00-8050) beschichtete Objektträger.
2. Objektträger mit destilliertem Wasser für jeweils 2 Min. waschen.
3. 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.*)
4. Die Objektträger in ein Objektträrgestell setzen und das Becherglas mit dem kochenden Puffer plazieren. Es 15 Minuten kochen lassen.
5. Nach der Erhitzung das Becherglas von der heißen Platte entfernen und es für mindestens 15-20 Minuten bei Zimmertemperatur abkühlen lassen.
6. Die Objektträger mit PBS (Cat. Nr. 00-3000) spülen und das Immunofärbungs-Protokoll beginnen.

### **Enzym-Verdauung, wenn benötigt**

1. Das Enzym der Wahl bei 37°C für 10 Min. vorwärmen
2. Das vorwärmte Enzym auf eine Gewebesektion geben und bei 37°C für 10 Min. inkubieren.
3. In mehreren Wecheln von PBS (Cat. Nr. 00-3000) waschen und das Immunfärbungsprotokoll beginnen.

## EMPFOHLENES MIT DER HAND FÄRBUNGSVERFAHREN

1. Die Objektträger in Peroxidase Löschungs-Lösung tauchen und mit PBS spülen.
2. Die Serums-Blockierungs-Lösung dazugeben.
3. Primären Antikörper dazugeben und für 30-60 Min. bei Zimmertemperatur inkubieren; mit PBS spülen.
4. Sekundären Antikörper dazugeben und für 10 Min. bei Zimmertemperatur inkubieren; mit PBS spülen.
5. Enzymkonjugat dazugeben und für 10 Min. bei Zimmertemperatur inkubieren; mit PBS spülen.
6. Chromogen dazugeben und für 5-10 Min. bei Zimmertemperatur inkubieren; mit PBS spülen.

## BENÖTIGTE, ABER NICHT GELIEFERTE MATERIALIEN

<b>Reagens</b>	<b>Katalog Nr.</b>
1. HistoGrip™	00-8050
2. Super PAP Pen	00-8899
3. Isotyp Kontrolle für Primären Antikörper von Kaninchen oder Maus	08-6199 oder 08-6599
4. Antikörper Verdünner	00-3118
5. PBS (0.01 M PBS)	00-3000
6. Mayer's Haematoxylin	00-8011
7. Citrat Puffer pH 6.0 ( <b>wenn für HIER benötigt</b> )	00-5000
8. EDTA Lösung ( <b>wenn benötigt für HIER</b> )	00-5500
9. Digest-All™ 1, Digest-All™ 2, oder Digest-All™ 3 ( <b>Wenn benötigt für Enzym Verdauung</b> )	00-3007, 00-3008 oder 00-3009
10. SuperPicTure™ Polymer Kit, oder LAB-SA Kit (Histostain®-Plus, und Cap-Plus™) (siehe Verzeichnis 2).	
11. 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).	
12. 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](http://www.invitrogen.com).**

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

Bevollmächtigter Repräsentant für IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd., Inchinnan Business Park, 3 Fountain Drive, Paisley, PA4 9RF, UK

[www.invitrogen.com](http://www.invitrogen.com)

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

PI 08-1426

(Rev 09/09) DCC-09-1290

© 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](http://www.invitrogen.com)). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.