

Pepsin Solution

REF / Cat. No.: ZUC038-060 60 ml

Gebrauchsanweisung

Zweckbestimmung

Die Pepsin Solution ist eine gebrauchsfertige Lösung zur enzymatischen Antigen-Demaskierung (oder Epitop-Demaskierung) in Formalin-fixierten Gewebeschnitten, die auf Objektträger aufgezogen wurden. Diese gelegentlich auch als PIER (*Protease Induced Epitope Retrieval*) bezeichnete Methodik wird in erster Linie vor immunhistochemischen Färbeverfahren eingesetzt.

Zum Gebrauch als Forschungsreagenz.

Zusammenfassung / Erläuterung

Immunhistochemische Färbeverfahren bestehen aus einer Abfolge verschiedener Inkubationsschritte mit Blockierungslösungen, Primärantikörpern, Sekundärreagenzien, Enzymsubstraten und Chromogenen, die nacheinander auf Schnittpräparate aufgetragen werden. Meist werden die Schnittpräparate aus zuvor in Formaldehydlösungen (meist verdünntes „Formalin“) fixierten Gewebeproben hergestellt.

Die Formaldehydfixierung stabilisiert die zellulären Strukturen sehr effektiv und bewahrt damit die Morphologie des Präparates.

Andererseits führt die Formaldehydfixierung aber häufig dazu, dass Epitope von Antigenen, die immunhistochemisch nachgewiesen werden sollen, durch Quervernetzungen stark verändert oder „maskiert“ werden. Um sie für den Primärantikörper beim anschließenden immunhistochemischen Nachweis zugänglich zu machen, müssen sie zunächst „demaskiert“ werden.

Es gibt vielfältige Möglichkeiten der Epitop-Demaskierung. Dazu zählen die thermische Vorbehandlungen (HIER) in Pufferlösungen verschiedener Zusammensetzungen und pH-Werte oder der enzymatischen Andau mit proteolytischen Enzymen (PIER). Die Auswahl der geeigneten Methode richtet sich nach dem verwendeten Primärantikörper.

Prinzip der Methode

Pepsin Solution ist eine gebrauchsfertige, gepufferte Pepsin-Lösung zur enzymatischen Epitop-Demaskierung.

Geliefertes Reagenz:

REF / Cat. No. ZUC038-060

60 ml **Pepsin Solution** (gebrauchsfertig)

Lagerung und Handhabung

Die Lösung sollte bei 2-8°C gelagert werden ohne weiter verdünnt zu werden. Sie ist bei 2-8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die Lösung darf nicht über das Verfallsdatum hinaus verwendet werden.

Vorsichtsmaßnahmen

Anwendung durch geschultes Fachpersonal. Tragen Sie Schutzausrüstung, um Augen-, Haut- oder Schleimhautkontakt mit den Reagenzien zu vermeiden. Falls Sie mit einem der Reagenzien an empfindlicher Stelle in Kontakt kommen, waschen Sie diese mit reichlich Wasser.

Sicherheitsdatenblätter für das Fachpersonal sind auf Anfrage erhältlich.

Vorbereitung der Reagenzien (Ansatz der Arbeitslösung)

Entfällt; die Lösung ist gebrauchsfertig.

Anwendung:

Pepsin Solution eignet sich zur enzymatischen Epitop-Demaskierung.

Die Epitop-Demaskierung wird *nach* der Entparaffinierung und Rehydratisierung der Schnittpräparate durchgeführt.

- 1) Entparaffiniertes Gewebe mit gebrauchsfertiger Pepsinlösung (Pepsin-Single Solution) bedecken.
- 2) Inkubation für 10-15 Minuten bei 37°C
(Alternativ kann 20 bis 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert werden. Es hat sich gezeigt, dass in Einzelfällen durch Verlängerung der Inkubationszeit auf bis zu 120 Min. ein stärkeres Signal erzielt werden kann. Dies gilt z.B. für den Nachweis von Kollagen IV mit bestimmten monoklonalen Antikörpern.)
- 3) Gründlich (3 x) mit Waschpuffer spülen.
- 4) Immunhistochemische Färbung wie üblich durchführen.

Qualitätskontrolle

Zur genauen Auswertung sollte bei jedem Färbedurchgang eine Positiv- und eine Negativkontrolle mitgeführt werden. Die Positivkontrolle dient der Überprüfung der korrekten Verarbeitung der Probe. Ist die Negativkontrolle positiv, so weist dies auf eine unspezifische Färbung hin.

Fehlersuche

Sollte eine ungewöhnliche Färbung auftreten, so lesen Sie bitte diese Packungsbeilage auf eventuelle Hinweise oder kontaktieren Sie den Hersteller.

Zu erwartende Resultate

Am Ende der immunhistochemischen Färbung bildet sich während der Reaktion zwischen einem Substrat und einem geeigneten Enzym, meist Meerrettichperoxidase oder Alkalische Phosphatase, in Gegenwart eines geeigneten Chromogens am Ort der Bindung des Primärantikörpers ein Farbniederschlag, der im Lichtmikroskop ausgewertet werden kann. Die Farbgebung ist abhängig vom verwendeten Chromogen.

Grenzen der Methode

Die Immunhistochemie ist eine komplexe Methode, in der histologische sowie immunologische Detektionsmethoden kombiniert werden. Die Gewebeverarbeitung oder die Handhabung der Proben vor der eigentlichen Immunhistologie können zu ungenauen Ergebnissen führen, wenn die Richtlinien nicht eingehalten wurden (Nadji and Morales, 1983).

Eine unzureichende Gegenfärbung oder falsches Eindecken kann die Interpretation der Ergebnisse beeinflussen.

Zytomed Systems garantiert, dass das Produkt bei korrekter Lagerung und Verwendung bis zum Ablauf des Haltbarkeitsdatums allen beschriebenen Anforderungen entspricht. Darüber hinaus gehende Garantien werden nicht gegeben.

Leistungsdaten

Zytomed Systems hat Studien hinsichtlich der Leistung der Lösung durchgeführt. Das Produkt wurde als geeignet für den vorgesehenen Verwendungszweck beurteilt.

Literaturverzeichnis

Varma M, Linden MD, Amin MB Mod Pathol 12:472-478, 1999

Nadji M and Morales AR Ann N.Y. Acad Sci 420:134-9, 1983



www.zytomed-systems.de



Zytomed Systems GmbH • Anhaltinerstraße 16 • 14163 Berlin, Germany • Tel: (+49) 30-804 984 990

Erklärungen zu den Symbolen auf dem Produktetikett

Die Symbole werden gemäß der ISO 15223-1 verwendet. Weitere Symbole auf dem Produktetikett können sein:



GSH02: Entzündlich



GSH05: Ätzend



GSH07: Achtung



GSH08: Systemische Gesundheitsgefährdungen

RUO

Nur für Forschungszwecke