

Trypsin Pretreatment Kit

REF / Cat. No.: ZUC043-155 155 ml

Gebrauchsanweisung

Zweckbestimmung:

Das Trypsin Pretreatment Kit besteht aus 2 Reagenzien zur Herstellung einer Trypsin-Lösung für die enzymatische 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 Formaldehyd Fixierung stabilisiert die zellulären Strukturen sehr effektiv und bewahrt damit die Morphologie des Präparates.

Andererseits führt die Formaldehyd Fixierung 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:

Die Reagenzien der Trypsin Pretreatment Kits dienen zur Herstellung einer gepufferten Trypsin-Lösung zur enzymatischen Epitop-Demaskierung.

Gelieferte Reagenzien:

REF / Cat. No. ZUC043-155

30 ml Trypsin Solution

125 ml Trypsin Buffer

Lagerung und Handhabung:

Die Lösungen sollten bei 2-8°C gelagert werden. Sie sind bei 2-8°C bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die Lösungen dürfen nicht über das Verfallsdatum hinaus verwendet werden.

Bei immunhistochemischen Färbeverfahren sollten Positiv- und Negativkontrollen parallel zum Untersuchungsmaterial mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Färbung oder Abweichungen vom zu erwartenden Färbeergebnis beobachtet wird, die vermutlich auf das Reagenz zurückzuführen sind, kontaktieren Sie bitte den Hersteller.

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):

Zur Herstellung der benötigten Menge an gebrauchsfertiger Enzymlösung mischen Sie **1 Teil Trypsin Solution** (Trypsin-Lösung) mit **3 Teilen Trypsin Buffer** (Trypsin Pufferlösung).

Hinweis 1: Durch Veränderung des Mischungsverhältnisses kann die Aktivität der Trypsin-Lösung verändert werden. Wenn eine sehr starke Epitop-Demaskierung gewünscht wird, können die beiden Komponenten im Verhältnis 1:1 gemischt werden.

Hinweis 2: Die angesetzte Arbeitslösung ist bei Lagerung bei 2-8°C für mindestens 1 Woche stabil.

Anwendung:

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

- 1) Entparaffiniertes Gewebe mit der zuvor angesetzten Trypsin-Lösung bedecken.
- 2) Inkubation für 10-20 Minuten bei 37°C
- 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.

Literatur:

Ashton-Key M, Jessup E, Isaacson PG. Histopathol 29(6):525-531, 1996

Cattoretti G, Pileri S, Parravicini C et al. J Pathol 171(2):83-98, 1993

Nadji M und 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



Nur für Forschungszwecke