

Fast Enzyme (Ready-To-Use)

REF / Cat. No.: ZUC059-015 15 ml

Gebrauchsanweisung

Zweckbestimmung

Fast Enzyme 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 u.a. vor immunhistochemischen Färbeverfahren eingesetzt.

Proteolytische Vorbehandlungen von Gewebeschnitten werden darüber hinaus auch vor *in situ*-Hybridisierungen durchgeführt.

Zum Gebrauch als Forschungsreagenz.

Zusammenfassung / Erläuterung

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

Die Formaldehyd Fixierung stabilisiert die zellulären Strukturen sehr effektiv und bewahrt damit die Morphologie und die Makromoleküle im Präparat.

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

Fast Enzyme ist eine gebrauchsfertige Enzymlösung zur enzymatischen Epitop-Demaskierung.

Geliefertes Reagenz

REF / Cat. No. ZUC059-015

15 ml Fast Enzyme (gebrauchsfertige Lösung)

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

Fast Enzyme eignet sich zur enzymatischen Epitop-Demaskierung.

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

- 1) Entparaffiniertes Gewebe mit gebrauchsfertiger Enzymlösung (Fast Enzyme) vollständig bedecken.
- 2) Inkubation für 5 Minuten bei Raumtemperatur
(In Einzelfällen kann durch Verlängerung der Inkubationszeit ein stärkeres Signal erzielt werden. Meist ist eine fünfminütige Inkubation bei Raumtemperatur aber ausreichend.)
- 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, die vermutlich auf das Reagenz zurückzuführen ist, 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 können nicht gegeben werden.

Leistungsdaten

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



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