

OmniPrep Solution pH 9.0 (10 X)

REF / Cat. No.: ZUC067-100 100 ml
ZUC067-500 500 ml

Gebrauchsanweisung

Zweckbestimmung:

OmniPrep Solution pH 9.0 ist eine Lösung zur Entparaffinierung von Formalin fixierten Gewebeschnitten, die auf Objektträger aufgezogen wurden. Sie dient gleichzeitig der thermischen Antigen-Demaskierung (oder Epitop-Demaskierung). Dieses auch als HIER (*Heat Induced Epitope Retrieval*) bezeichnete Verfahren 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 fixierten Gewebeproben hergestellt. Die Formaldehyd Fixierung stabilisiert die zellulären Strukturen sehr effektiv und bewahrt damit die Morphologie des Präparates.

Andererseits führt die Formaldehyd Fixierung sehr 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 thermische Vorbehandlungen (HIER) in Pufferlösungen verschiedener Zusammensetzungen und pH-Werte oder der enzymatischen Andau mit proteolytischen Enzymen. Die Auswahl der geeigneten Methode richtet sich nach dem verwendeten Primärantikörper.

Vor der Vorbehandlung der Präparate mit heißen Pufferlösungen oder Enzymen müssen diese in jedem Fall entparaffiniert und rehydriert, also in ein wässriges Milieu überführt werden.

Prinzip der Methode:

OmniPrep Solution pH 9.0 ist eine 10fach konzentrierte gepufferte Lösung mit Zusätzen von Detergenz und stabilisierenden Substanzen. Zur Herstellung der gebrauchsfertigen Lösung wird das Pufferkonzentrat 1:10 mit deionisiertem oder destilliertem H₂O verdünnt. Dabei stellt sich in der Lösung ein pH-Wert von 9,0 (8,8 bis 9,2) ein. OmniPrep Solution pH 9.0 bewirkt eine effiziente Entparaffinierung und Epitop-Demaskierung. Im Vergleich zu dem häufig verwendeten Citratpuffer mit pH 6,0 führt eine Hitzevorbehandlung mit OmniPrep bei immunhistochemischen Reaktionen mit einer Vielzahl verschiedener Primärantikörper zu deutlich stärkeren Signalen.

Gelieferte Reagenzien:

REF / Cat. No. ZUC067-100

100 ml **OmniPrep Solution pH 9.0**

(10fach konzentriert, ausreichend für 1 Liter gebrauchsfertige Lösung)

REF / Cat. No. ZUC067-500

500 ml **OmniPrep Solution pH 9.0**

(10fach konzentriert, ausreichend für 5 Liter gebrauchsfertige Lösung)

Lagerung und Handhabung:

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

Bei Raumtemperatur ist die Lösung ab Auslieferung mindestens 10 Monate stabil.

Die angesetzte Arbeitslösung ist bei 2-8°C für 1 Monat stabil.

Positiv- und Negativkontrollen müssen parallel zum Untersuchungsmaterial mitgeführt werden. Wenn eine unerwartete Färbung oder Abweichungen vom zu erwartenden Färbergebnis 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 dem Reagenz zu vermeiden. Falls Sie mit dem Reagenz an empfindlicher Stelle in Kontakt kommen, waschen Sie diese mit reichlich Wasser. Eine mikrobiologische Verunreinigung der Reagenzien sollte vermieden werden, da sonst eine unspezifische Färbung auftreten könnte. Zur Stabilisierung wird ProClin 300 eingesetzt. Das Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage erhältlich.

Vorbereitung der Reagenzien:

Herstellung der gebrauchsfertigen OmniPrep Lösung pH 9.0:

- OminPrep Solution pH 9.0 Konzentrat 1:10 mit deionisiertem oder destilliertem H₂O verdünnen, gut mischen.
- Der pH-Wert der Lösung sollte 9,0 (8,8 bis 9,2) betragen, wenn nötig, mit verdünnter NaOH oder HCl einstellen.

Anwendung:

Schnittpräparate sollten für die kombinierte Entparaffinierung und thermische Epitop-Demaskierung immer auf adhäsive Objektträger aufgezogen werden.

Gebrauchsfertige Arbeitslösung durch 1:10 Verdünnung des Konzentrates herstellen und in eine Küvette einfüllen. Die Menge muss ausreichen, um sämtliche Gewebeschnitte auf den Objektträgern vollständig zu bedecken.

Beispielhafte Kurzprotokolle:

- Nur Entparaffinierung:
Wasserbad (40 Min. 70°C)
- Entparaffinierung mit anschließender Enzymvorbehandlung:
Wasserbad (40 Min. 70°C), dann enzymatischer Anda u gemäß Produktspezifikation
- Entparaffinierung mit gleichzeitiger Hitzedemaskierung:
Schnellkochtopf (10 Min. 120°C)

Nach der Inkubation die Küvette so lange unter heißem Leitungswasser (60-70°C) spülen, bis das Wasser die OmniPrep Solution pH 9.0 vollständig verdrängt hat. Anschließend das Wasser abgießen, die Objektträger in Waschpuffer überführen und die immunhistochemische Färbung 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 hat großem Einfluss auf die Färbequalität.

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 Reagenzien durchgeführt. Das Produkt wurde als geeignet für den vorgesehenen Verwendungszweck beurteilt.

Stand: 13.05.2014

Rev: A0514

Doc: DB_ZUC067_100_500

Erläuterung der auf dem Produktetikett verwendeten Symbole:

	Bestellnummer Catalog Number Reference du catalogue		Verwendbar bis Use By Utiliser jusque		Gebrauchsanweisung beachten Consult Instructions for use Consulter les instructions d'utilisation
	Chargenbezeichnung Batch Code Code du lot		Lagerungstemperatur Temperature Limitation Limites de température		Nur für Forschungszwecke For Research Use Only Pour la recherche uniquement
	In vitro Diagnostikum In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositif médical de diagnostic in vitro		Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Hersteller / Manufacturer / Fabricant Zytomed Systems GmbH Anhaltinerstraße 16 14163 Berlin, Germany Tel: (+49) 30-804 984 990 www.zytomed-systems.de
	Achtung/Gefahr Warning/Danger Attention/Danger		Achtung Warning Attention		