



ZytoChem-Plus Streptavidin-AP Conjugate

REF / Cat. No.: **ZUC011-008** 8 ml gebrauchsfertig

Gebrauchsanweisung

Zweckbestimmung

Das ZytoChem Plus AP Conjugate (ZUC011) ist Bestandteil eines der folgenden ZytoChem Plus AP-Kits:

AP008RED	80 Tests (mit Chromogen), 8 ml
AP060	600 Tests, 60 ml
AP125	1.250 Tests, 125 ml
AP500	5.000 Tests, 500 ml
AP008RED-MS	80 Tests (mit Chromogen), 8 ml
AP060-MS	600 Tests, 60 ml
AP125-MS	1.250 Tests, 125 ml
AP500-MS	5.000 Tests, 500 ml
AP008RED-RB	80 Tests (mit Chromogen), 8 ml
AP060-MS	600 Tests, 60 ml
AP125-MS	1.250 Tests, 125 ml
AP500-MS	5.000 Tests, 500 ml

Die ZytoChem-Plus AP Kits arbeiten nach dem Streptavidin-Biotin-Prinzip und sind für den qualitativen Nachweis von Antigenen in fixierten und in Paraffin eingebetteten Geweben, in Kryostatschnitten und in Zellpräparaten bestimmt. Es können Gewebe untersucht werden, die unterschiedliche Fixierungsverfahren durchlaufen haben, wie z.B. Formaldehyd (neutral gepuffertes Formalin), B5, Bouin, Ethanol oder HOPE.

Zum Gebrauch als In vitro Diagnostikum.

Zusammenfassung / Erläuterung

Ziel der immunhistochemischen Färbung ist die Visualisierung von Gewebe- bzw. Zellantigenen.

Bei den ZytoChem-Plus AP Kits handelt es sich um hoch sensitive Nachweiskits für die Immunhisto- und -zytochemie. Sie arbeiten mit der Streptavidin-Biotin-Technik, bei der ein biotinylierter Sekundärantikörper mehrere Moleküle eines Konjugates aus Streptavidin und Alkalischer Phosphatase (AP) bindet. Die Visualisierung erfolgt über eine Enzym-Substrat-Reaktion in Gegenwart einer farbgebenden Komponente (Chromogen), die schließlich eine mikroskopische Auswertung ermöglicht.

Prinzip der Methode

Schnittpräparate von in Paraffin eingebetteten Geweben werden zunächst entparaffiniert und rehydratisiert.

Hintergrundfärbung durch unspezifische Bindung des Primärantikörpers oder des Sekundärantikörpers wird durch die Inkubation mit einer Blockierungslösung minimiert (Dieser Schritt kann entfallen, wenn der verwendeten Primärantikörper in einem geeigneten Puffer verdünnt wurde).

Anschließend erfolgt die Inkubation mit dem spezifischen Primärantikörper. Nach einem Waschschrift wird der biotinylierte Sekundärantikörper („Brückenantikörper“, „Link“) aufgetragen. Dieser fungiert als Brücke zwischen dem Primärantikörper und dem Alkalische Phosphatase-Konjugat („AP-Label“). Nach einem Waschschrift wird dieses Konjugat aufgetragen und bindet am Biotinrest des Brückenantikörpers. Nach einem weiteren Waschschrift wird durch Hinzugeben einer Substrat/Chromogenlösung eine enzymatische Reaktion mit der Alkalischen Phosphatase gestartet, in deren Verlauf sich am Ort der Bindung des Primärantikörpers ein Farbniederschlag bildet, der im Lichtmikroskop sichtbar ist.

Die Farbgebung ist abhängig vom verwendeten Chromogen. Das Chromogen Permanent AP Red bildet am Ort des Zielantigens ein pink-rotes Reaktionsprodukt.

Geliefertes Reagenz

REF / Cat. No. ZUC011-008
8 ml **Streptavidin-AP-Conjugate** (gebrauchsfertig)

Lagerung und Handhabung

Die Lösung sollte bei 2-8°C gelagert werden ohne weiter verdünnt zu werden. Bitte bewahren Sie die Lösung an einem lichtgeschützten Ort auf. Nicht einfrieren. Die Lösung ist bis zum auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar, wenn sie bei 2-8°C gelagert wurde. Die Lösung darf nicht über das Verfallsdatum hinaus verwendet werden. Positiv- und Negativkontrollen müssen 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. Sicherheitsdatenblätter für das Fachpersonal sind auf Anfrage erhältlich. 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 mikrobielle Verunreinigung der Reagenzien sollte vermieden werden, da sonst eine unspezifische Färbung auftreten könnte.

Das zur Stabilisierung eingesetzte Natriumazid (NaN_3) gilt in der vorliegenden Konzentration nicht als Gefahrstoff. Natriumazidanreicherungen können in Abflussrohren aus Blei und Kupfer zur Bildung von hoch explosiven Metallaziden führen. Um solche Azidanreicherungen in Abflussrohren zu vermeiden, muss nach der Entsorgung mit reichlich Wasser nachgespült werden. Auf Anfrage ist das Sicherheitsdatenblatt für die Reinsubstanz erhältlich.

Vorbereitung der Reagenzien

- Reagenzien vor Gebrauch auf RT bringen.
- Paraffinschnitte entparaffinieren und rehydratisieren.
- Vorbehandlung (optional) durch HIER (*Heat Induced Epitope Retrieval*) oder enzymatischen Andau
- Die Gewebeschnitte müssen vollständig mit den verschiedenen Lösungen überschichtet sein, um ein Austrocknen zu vermeiden.

Färbeprotokoll

1. Proteinblock (Blocking Solution, Reagent/Reagenz 1) (*Dieser Schritt ist optional*) **5 Min.**
2. Waschen mit Waschpuffer **1 x 2 Min.**
3. Primärantikörper (optimal verdünnt) oder negatives Kontrollreagenz **30-60 Min.**
4. Waschen mit Waschpuffer **3 x 2 Min.**
5. Sekundärantikörper (Biotinylated Secondary Antibody, polyvalent, Reagent 2, gelb) **10-15 Min.**
6. Waschen mit Waschpuffer **3 x 2 Min.**
7. Enzym-Konjugat (Streptavidin-AP-Conjugate, Reagent 3, rot) **10-15 Min.**
8. Waschen mit Waschpuffer **3 x 2 Min.**
9. Permanent AP Red **10-20 Min.**
(Kontrolle der Färbeintensität unter dem Mikroskop empfohlen)
10. Stoppen der Reaktion mit dest. H_2O , sobald die gewünschte Färbeintensität erreicht ist
11. Gegenfärben und Bläuen
12. Eindecken: permanent oder wässrig bei Permanent AP Red

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.

Weitere Hinweise zu möglichen Fehlerquellen sowie Lösungsvorschläge finden Sie in den Gebrauchsanweisungen zu unseren Detektionskits, die ZytoChemPlus-AP Conjugate als Komponente enthalten. Diese Kits sind im Abschnitt „Zweckbestimmung“ aufgelistet.

Zu erwartende Resultate

Während der Reaktion zwischen Substrat und Alkalischer Phosphatase bildet sich in Gegenwart des 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). Die Aktivität der endogenen Alkalischen Phosphatase oder der endogene Biotingehalt können unspezifische Färbungen verursachen. Die endogene Alkalische Phosphatase-Aktivität kann durch Levamisol blockiert werden. Levamisol hemmt allerdings weder die intestinale noch die plazentale Form der Alkalischen Phosphatase. Hintergrundfärbung durch endogenes Biotin kann, falls nötig, durch einen vorgeschalteten Avidin-Biotin Blockierungsschritt minimiert werden.

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

Die Farbintensität des Endproduktes kann, insbesondere bei Lichteinfall, abnehmen.

Zu lange Inkubation der Proteinblockierungslösung (Blocking Solution) kann die Signalintensität verringern. Wir empfehlen außerdem, die Blocking Solution anschließend abzuwaschen und nicht, wie bei anderen Verfahren, nur ablaufen zu lassen

Falls eine erhöhte Sensitivität erzielt werden soll, empfehlen wir einen doppelten Substrat/Chromogenschritt (2 x Permanent AP Red).

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.

Literatur








Nadji M, Morales AR. Immunohistochemical markers for prostate cancer. Ann N Y Acad Sci 420:134-138, 1983

Stand: 18.02.2019

Rev: A0219

Doc: ZUC011_008

Erläuterung der auf dem Produktetikett verwendeten Symbole:

REF	Bestellnummer Catalog Number Reference du catalogue		Verwendbar bis Use By Utiliser jusque		Gebrauchsanweisung beachten Consult Instructions for use Consulter les instructions d'utilisation
LOT	Chargenbezeichnung Batch Code Code du lot		Lagerungstemperatur Temperature Limitation Limites de température	RUO	Nur für Forschungszwecke For Research Use Only Pour la recherche uniquement
IVD	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	