



# ZytoChem-Plus Streptavidin-HRP Conjugate

**REF** / Cat. No.: ZUC012-008    8 ml gebrauchsfertig

## Gebrauchsanweisung

### Zweckbestimmung:

Das ZytoChem Plus HRP Conjugate (ZUC012) ist Bestandteil eines der folgenden ZytoChem Plus HRP-Kits:

HRP008AEC	80 Tests (mit AEC), 8 ml
HRP008DAB	80 Tests (mit DAB), 8 ml
HRP060	600 Tests, 60 ml
HRP125	1.250 Tests, 125 ml
HRP500	5.000 Tests, 500 ml
HRP008AEC-MS	80 Tests (mit AEC), 8 ml
HRP008DAB-MS	80 Tests (mit DAB), 8 ml
HRP060-MS	600 Tests, 60 ml
HRP125-MS	1.250 Tests, 125 ml
HRP500-MS	5.000 Tests, 500 ml
HRP008AEC-RB	80 Tests (mit AEC), 8 ml
HRP008DAB-RB	80 Tests (mit DAB), 8 ml
HRP060-MS	600 Tests, 60 ml
HRP125-MS	1.250 Tests, 125 ml
HRP500-MS	5.000 Tests, 500 ml

Die ZytoChem-Plus HRP 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 HRP 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 Meerrettich-Peroxidase (Horse Radish Peroxidase, HRP) 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. Endogene Peroxidase im Gewebeschnitt, die später zu unerwünschter Hintergrundfärbung führen kann, wird durch Inkubation des Präparates mit 3 %iger H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung („Peroxid-Block“) inaktiviert. 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 Streptavidin-Meerrettichperoxidase-Konjugat („HRP-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 Peroxidase 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 AEC (nur in den Kits HRP008AEC, HRP008AEC-MS und HRP008AEC-RB enthalten) bildet am Ort des Zielantigens ein rotbraunes Reaktionsprodukt. DAB (nur in den Kits HRP008DAB, HRP008DAB-MS und HRP008DAB-RB enthalten) bildet ein dunkelbraunes Reaktionsprodukt.

### Geliefertes Reagenz

**REF** / Cat. No. **ZUC012-008**

8 ml **Streptavidin-HRP-Conjugate** (gebrauchsfertig)

### Lagerung und Handhabung

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. 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.

### 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

- 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. Peroxidblock (3 % H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Lösung)   | <b>10 Min.</b>    |
| 2. Waschen mit Waschpuffer  | <b>1 x 2 Min.</b> |
| 3. Proteinblock (Blocking Solution - SuperBlock)  | <b>5 Min.</b>     |
| 4. Waschen mit Waschpuffer  | <b>1 x 2 Min.</b> |
| 5. Primärantikörper (optimal verdünnt) oder negatives Kontrollreagenz                                   | <b>30-60 Min.</b> |
| 6. Waschen mit Waschpuffer  | <b>3 x 2 Min.</b> |
| 7. Sekundärantikörper (Biotinylated Secondary Antibody, polyvalent, gelb)                               | <b>10-15 Min.</b> |
| 8. Waschen mit Waschpuffer  | <b>3 x 2 Min.</b> |
| 9. <b>Enzym-Konjugat (Streptavidin-HRP-Conjugate, ZUC012, rot)</b>                                      | <b>10-15 Min.</b> |
| 10. Waschen mit Waschpuffer   | <b>3 x 2 Min.</b> |
| 11. AEC oder DAB (Kontrolle der Färbeintensität unter dem Mikroskop empfohlen)                          | <b>5-15 Min.</b>  |
| 12. Stoppen der Reaktion mit dest. H <sub>2</sub> O, sobald die gewünschte Färbeintensität erreicht ist |                   |
| 13. Gegenfärben und Bläuen  |                   |
| 14. Eindecken: wässrig bei AEC, permanent bei DAB   |                   |

### 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-HRP Conjugate als Komponente enthalten. Diese Kits sind im Abschnitt „Zweckbestimmung“ aufgelistet.

### Zu erwartende Resultate

Während der Reaktion zwischen Substrat und Meerrettichperoxidase in Gegenwart des Chromogens bildet sich 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 Gewebeerarbeitung 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 Peroxidase oder der endogene Biotingehalt können unspezifische Färbungen verursachen. Die Peroxidase-Aktivität kann durch H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> blockiert werden. 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.

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

Stand: 23.08.2013

Rev: A0813

Doc: ZUC012\_008

Erläuterung der auf dem Produktetikett verwendeten Symbole:

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