

Tampon 10X Tris-EDTA pour la récupération d'épitope induite par la chaleur, pH 9,0

Numéro d'article: K043

Document #: DS-2004-A
Date d'entrée en vigueur: 2/1/2015

Utilisation prévue

Pour un usage de diagnostic *in vitro*.

Résumé et explication

La technique de récupération d'antigène est une nouvelle méthode de récupération d'antigènes à partir de tissus fixés au formol et inclus en paraffine. Il consiste à chauffer des coupes de tissus en présence d'une solution de récupération d'antigène. La qualité du résultat de la coloration dépend en grande partie du strict respect du protocole de récupération d'antigène. Si les antigènes ne sont pas complètement récupérés, la coloration est claire et l'arrière-plan peut être élevé.

Applications connues

Immunohistochimie (tissus inclus dans la paraffine et fixés au formol)

Description du produit

Tampon 10X Tris-EDTA pour la récupération d'épitope induit par la chaleur, pH 9,0 est conçu pour être utilisé lors de la récupération d'épitope induit par la chaleur (HIER) qui précède l'immunohistochimie sur des coupes de tissu incluses en paraffine fixées au formol. Il a été prouvé que l'utilisation de ce tampon en combinaison avec de la chaleur (souvent au micro-ondes, au bain-marie ou à l'autocuiseur) rétablissait l'antigénicité des protéines modifiées lors de la fixation des tissus au formol. Ce tampon est fourni sous forme de solution mère 10X.

Format

Concentré 10X

Volume / UOM

500 ml

Principes de la procédure

La fixation de tissus par la formaline induit des liaisons croisées entre protéines qui contribuent au maintien de la morphologie cellulaire en inactivant les enzymes digestives et en préservant le cytosquelette. La fixation arrête l'autolyse des tissus, préserve les structures des tissus et immobilise les antigènes. Cependant, les antigènes subissent une altération chimique de leurs structures primaire, secondaire et tertiaire lors de la fixation. Cela peut entraîner une perte de réactivité d'un anticorps spécifique de cet antigène. Le traitement à haute énergie de ces protéines à un pH approprié conduit à la restauration de la structure de l'épitope et récupère ainsi la réactivité de l'anticorps contre l'antigène cible. Ce processus est défini comme la récupération d'antigène (Shi et al 1991). Il a été suggéré que la récupération d'antigène desserre ou rompt les liaisons croisées induites par le formol. Cela permet une pénétration accrue des anticorps et l'accessibilité des épitopes.

Matériel requis mais non fourni

Système de récupération d'antigènes de Montage Opus® [AR 360] Biosystèmes diagnostiques

Stockage et manutention

Ranger à température ambiante. Ne pas utiliser après la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Si les réactifs sont stockés dans des conditions autres que celles spécifiées dans la notice, ils doivent être vérifiés par l'utilisateur. Les réactifs dilués doivent être utilisés rapidement.

Préparation des échantillons

Une fixation appropriée joue également un rôle important dans la préservation de la structure du tissu. Le protocole de récupération d'antigène est recommandé pour une utilisation dans des tissus qui ont été fixés au formol uniquement. Assurez-vous que les sections fixes sont bien intégrées à la paraffine. Couper les sections de tissu à 4-5 microns.

Précautions

1. Porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs.
2. Les échantillons, avant et après fixation, et tous les matériaux qui y sont exposés doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre l'infection et éliminés avec les précautions appropriées. Ne pipetez jamais les réactifs par la bouche et évitez tout contact de la peau et des muqueuses avec les réactifs et les échantillons. Si les réactifs ou les échantillons entrent en contact avec des zones sensibles, laver abondamment à l'eau.
3. La contamination microbienne des réactifs peut entraîner une augmentation de la coloration non spécifique.
4. Des temps d'incubation ou des températures autres que ceux spécifiés peuvent donner des résultats erronés. L'utilisateur doit valider un tel changement.
5. Ne pas utiliser le réactif après la date de péremption imprimée sur l'étiquette.
6. La fiche signalétique est disponible sur demande.
7. Consultez les réglementations OSHA, fédérales, nationales ou locales pour la mise au rebut de toute substance toxique.

Préparation de solutions de travail

1. Le format concentré 10X doit être dilué dix fois avec de l'eau distillée ou déminéralisée.
2. Mélangez une partie de la solution de récupération d'antigène concentrée avec neuf parties d'eau déminéralisée ou distillée.
3. Agitez vigoureusement le flacon pour mélanger complètement les composants du concentré (la solution peut se séparer en phases au fil du temps).
4. Stocker avec le bouchon bien fermé.

Recommandations de protocole

1. Déparaffiner et réhydrater les coupes de tissus.
2. Placez les lames dans une solution de récupération 1X dans un récipient pour lames (p. Ex., Bocal de Coplin, Tissue - Tek™, boîte de coloration ou boîte métallique à lames).
3. Récupérez des sections sous pression à l'aide du Système de récupération d'antigènes de Montage Opus® [AR 360] Biosystèmes diagnostiques.
4. Laisser les lames refroidir pendant 20 minutes pour atteindre la température ambiante.
5. Laver les lames dans de l'eau déminéralisée puis avec un tampon de lavage. Procéder aux recommandations d'immunomarquage dans la fiche technique de l'anticorps.
6. Rincez doucement en ajoutant progressivement de l'eau désionisée à la solution, puis retirez les lames et rincez à l'eau désionisée.

Contrôle de qualité

Reportez-vous aux normes de qualité du CLSI pour la conception et la mise en œuvre d'analyses d'immunohistochimie; Directive approuvée - Deuxième édition (I / LA28 - A2) CLSI Wayne, PA, États-Unis (www.clsi.org). 2011.

Support technique

1. Évitez de laisser la solution déborder, cela risquerait de faire sortir le tissu de la lame ou de le dessécher.
2. La coloration non spécifique du contrôle négatif peut être due à l'exposition à la biotine endogène. Une récupération excessive peut parfois entraîner un bruit de fond élevé en raison du système de détection ou d'un excès d'anticorps.



Dans ce cas, une titration supplémentaire de l'anticorps peut être nécessaire. Y compris un bloc supplémentaire avidine-biotine qui devrait empêcher la coloration de la biotine exposée.

3. Si le contrôle positif donne un signal optimal, le contrôle négatif ne montre aucun arrière-plan et la lame de test donne un signal négatif ou faible, un fixateur différent aurait peut-être été utilisé. Afin d'obtenir le meilleur signal dans les coupes de tissu fixées avec un fixateur différent, il est recommandé d'optimiser les conditions de récupération de l'antigène.
4. Veuillez vous référer aux notices appropriées d'anticorps et de système de détection pour connaître le modèle et l'intensité de la coloration avec différents anticorps.
5. Contactez le support technique des Biosystèmes diagnostiques au (925) 484-335, poste 2, techsupport@dbiosys.com ou votre distributeur local pour signaler des taches inhabituelles.

Limites de la procédure

Le protocole de récupération d'antigène est recommandé pour une utilisation avec des tissus fixés au formol uniquement. D'autres fixateurs ou procédures de fixation peuvent ne pas produire de résultats comparables. L'interprétation des résultats de coloration incombe uniquement à l'utilisateur.

Garantie

Aucune garantie, expresse ou implicite, ne s'étend au-delà de cette description. Biosystèmes diagnostiques n'est pas responsable des dommages matériels, corporels ou financiers causés par ce produit.

Résultats attendus

La récupération d'antigène peut produire une coloration nettement améliorée d'une grande variété d'anticorps monoclonaux et polyclonaux. Cela aide à surmonter la coloration faussement négative de tissus trop fixés, à élargir la gamme d'anticorps pouvant être utilisés et à accroître l'utilité des tissus d'archives.

La récupération d'antigène optimisée devrait améliorer les signaux au bruit en immunohistochimie.

Caractéristiques de performance

Les protocoles pour une application spécifique peuvent varier. Ceux-ci incluent, mais ne sont pas limités à: la fixation, la méthode de récupération de chaleur, les temps d'incubation, l'épaisseur de la coupe du tissu et le kit de détection utilisé. En raison de la sensibilité supérieure de ces réactifs uniques, les durées d'incubation et les titres répertoriés ne s'appliquent pas aux autres systèmes de détection, car les résultats peuvent varier. Les recommandations et protocoles de la fiche de données reposent sur l'utilisation exclusive des produits des Biosystèmes diagnostiques. En fin de compte, il incombe à l'enquêteur de déterminer les conditions optimales. Ces produits sont des outils pouvant être utilisés par un pathologiste qualifié pour interpréter les données morphologiques en association avec d'autres tests de diagnostic et des données cliniques pertinentes.

Références

Shi et al. J Histochem Cytochem 39: 741, 1991

