

Dako Dual Endogenous Enzyme Block

Codice S2003

Prodotto pronto all'uso

Uso previsto

Per uso diagnostico in vitro.

Questo prodotto è destinato all'uso nelle procedure di colorazione immunoistochimiche (IHC) a base di perossidasi e fosfatasi alcalina. Può essere utilizzato su preparati cellulari, sezioni di tessuto congelate e sezioni di tessuto fissate in formalina e incluse in paraffina.

Reagenti forniti

Codice S2003

L'enzima Dual Endogenous Enzyme Block è disponibile nei seguenti formati:

15 mL per colorazioni manuali
10x11 mL confezionato per l'uso con il Dako Autostainer

Precauzioni

1. Per uso professionale.
2. Adottare le normali procedure previste per il trattamento dei prodotti di origine biologica.
3. Indossare dispositivi di protezione personale adeguati, per evitare il contatto con gli occhi e la pelle.
4. Smaltire la soluzione inutilizzata nel rispetto delle disposizioni locali, regionali e nazionali vigenti in materia.

Conservazione

Conservare a 2-8 °C.

Preparazione dei reagenti

Pronto all'uso. Prima dell'uso, equilibrare a temperatura ambiente.

Procedura

I campioni vengono incubati con il Dual Endogenous Enzyme Block per 10 minuti a temperatura ambiente, quindi sciacquati con un tampone di lavaggio idoneo quale il tampone Tris buffer, PBS o TBS prima dell'applicazione dell'anticorpo primario.

Risultati

Nelle procedure di colorazione IHC viene spesso osservata un'attività endogena di perossidasi, pseudoperossidasi e fosfatasi alcalina. Con alcune molecole è riscontrabile una colorazione di fondo non correlata alla reazione immunospecifica.

Le molecole che con maggiore frequenza sono interessate dalla perossidasi sono le emoproteine come l'emoglobina nei globuli rossi, la mioglobina nelle cellule muscolari, il citocromo nei granulociti, i monociti e le catalasi nel fegato e nel rene.¹

L'attività endogena di fosfatasi alcalina (FA) è intensa in una serie di cellule e tessuti, tra i quali l'epitelio della vescica, la lamina propria dell'ovaio, del rene e della ghiandola salivare.² La FA intestinale è spesso presente negli orletti a spazzola delle cellule epiteliali dell'intestino tenue.³ La FA placentare umana in genere è prodotta dai microvilli del sinciziotrofoblasto della placenta.⁴ Nei preparati a base di strisci cellulari, la FA è presente nei neutrofili segmentati, neutrofili a banda e metamielociti neutrofili. La fosfatasi alcalina può essere riscontrata anche nelle cellule leucemiche della leucemia granulocitica cronica o acuta e in alcune reazioni della leucemia neutrofila.

Durante la valutazione dei campioni di tessuto secondo le tecniche IHC con i metodi della perossidasi di rafano (HRP) e della fosfatasi alcalina (FA), la presenza di perossidasi e fosfatasi alcalina endogene spesso oscura la colorazione specifica dell'antigene bersaglio. È possibile inibire l'attività endogena di perossidasi e fosfatasi alcalina utilizzando il prodotto Dual Endogenous Enzyme Block, il quale è in grado di sopprimere la perossidasi endogena, la pseudoperossidasi e la fosfatasi alcalina nei preparati cellulari, nelle sezioni di tessuto congelate e nelle sezioni di tessuto incluse in paraffina.

Campioni

È possibile utilizzare sezioni di tessuto congelate e preparati cellulari quali strisci di sangue periferico, midollo osseo e altri fluidi corporei contenenti un numero elevato di cellule ematopoietiche. Per le sezioni di tessuto congelate, si consiglia una fase di fissazione in acetone. Per gli strisci di sangue e midollo osseo, si consiglia una fase di fissazione in acetone/metanolo.

Applicazioni



Questo prodotto è in grado di sopprimere la colorazione aspecifica dovuta all'attività endogena di perossidasi e pseudoperossidasi nelle procedure di colorazione IHC che si basano sul metodo della perossidasi. Il prodotto è inoltre in grado di sopprimere la colorazione aspecifica dovuta all'attività endogena di FA nelle procedure di colorazione IHC che si basano sul metodo della fosfatasi alcalina.

Limitazioni

La colorazione dei campioni dipende dal modo in cui il tessuto viene pretrattato. La fissazione, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'essiccazione, il riscaldamento, il sezionamento eseguiti in modo scorretto possono produrre artefatti, intrappolare l'anticorpo o generare risultati falsi positivi. Anche la reattività crociata o una reazione aspecifica con cellule necrotiche o degenerate potrebbe provocare una colorazione falsa positiva. L'uso del prodotto su strisci di sangue e strisci di midollo spinale potrebbe provocare la lisi degli eritrociti.

Bibliografia

1. Boenisch T. In: Naish SJ, ed. Handbook immunochemical staining methods. Carpinteria: Dako 1989
2. Ponder BA and Wilkinson MM. Inhibition of endogenous tissue alkaline phosphatase with the use of alkaline phosphatase conjugates in immunohistochemistry. J Histochem Cytochem 1981; 29(8):981
3. Uchida T, et al. Immunohistochemical localization of placental and intestinal alkaline phosphatases. In DeLellis RA (ed.) Advances in immunohistochemistry. New York: Masson Publishing 198;185
4. Groote GD, et al. Use of monoclonal antibodies to detect human placental alkaline phosphatase. Clin Chem 1983; 29(1):115

<div>REF</div> Numero di catalogo	<div></div> Limiti di temperatura	<div></div> Consultare le istruzioni per l'uso	<div></div> <div>Dako North America, Inc. 6392 Via Real Carpinteria, California 93013 USA</div> <div>Tel 805 566 6655 Fax 805 566 6688 Technical Support 800 424 0021 Customer Service 800 235 5763</div>	<div>EC</div> <div>REP</div>
<div></div> Fabbricante	<div>LOT</div> Codice del lotto	<div></div> Utilizzare entro		<div>Dako Denmark A/S Produktionsvej 42 DK-2600 Glostrup Denmark</div>
<div>EC</div> <div>REP</div> Rappresentante autorizzato per l'Unione Europea		<div>IVD</div> Dispositivo medico-diagnostico in vitro		<div>Tel +45 4485 9500 Fax +45 4485 9595</div> <div>www.dako.com</div>

PT0039/Rev C

Edizione 06/10