

Hitzebehandlung im Autoklav

Einleitung:

Das Erhitzen durch Autoklavieren ist gleichmäßiger als durch die Bestrahlung mit Mikrowellen. Diese Methode ist eine gute, wenn nicht sogar vorzuziehende Alternative zur Mikrowellenmethode [1, 2, 3].

Die wichtigsten Parameter sind:

- Art des *Target Retrieval*-Puffers
- Dauer der Hitzebehandlung
- Betriebstemperatur des Autoklav
- Nachzuweisendes Antigen
- Tischautoklav
- *Target Retrieval*-Puffer, siehe hierzu Abschnitt über die empfohlenen *Target Retrieval*-Puffer
- Inkubationskammer und Objektträgerhalter
- Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte müssen silanisierte Objektträger (Dako Code-Nr. S2024 oder S3003) oder mit anderen geeigneten Haftmitteln beschichtete Objektträger verwendet werden.

Protokoll:

Schnitte entparaffinieren und rehydrieren.

Autoklav-Methode

1. Objektträger in Objektträgerhalter aus Plastik- oder Metall stellen.
2. 250 ml *Target Retrieval*-Puffer in die Inkubationskammer füllen und den Objektträgerhalter hineinstellen. Die mit den Objektträgern versehene Kammer locker abdecken, um Verdunstung zu vermeiden.
3. Die Inkubationskammer in den Autoklav stellen, und das Gerät schließen.
4. Temperatur (in der Regel 120°C) und Zeit (10-20 Minuten) einstellen. Autoklav starten.
5. Nach dem Belüften den Autoklav öffnen, und die Inkubationskammer schnell entnehmen.
6. Gewebeschnitte mit destilliertem Wasser spülen.
7. Endogene Peroxidase blockieren (für Immunperoxidase-Methoden), und anschließend Schnitte in destilliertes Wasser stellen.
8. Mit TBS oder PBS spülen.
9. Mit der gewählten immunhistochemischen Methode fortfahren.

Wartung:

Keine.

Anmerkung zur Sicherheit:

Der Autoklav wird sehr heiß, heißer Dampf kann entweichen. Daher wird der Gebrauch von Gesichtsschutz und Isolierhandschuhen empfohlen.

Literatur:

- [1] Bankfalvi A, Navabi H, Bier B, Böcker W, Jasani B, Schmid KW. Wet autoklav pretreatment for antigen retrieval in diagnostic immunohistochemistry. *J Pathol* 1994; **174**:223-8.
- [2] Shin R-W, Iwaki T, Kitamoto T, Tateishi J. Hydrated autoklav pretreatment enhances tau immunoreactivity in formalin-fixed normal and Alzheimer's disease brain tissues. *Lab Invest* 1991; **64**: 693-702.

[3] Shin R-W, Iwaki T, Kitamoto T, Sato Y, Tateishi J. Massive accumulation of modified tau and severe depletion of normal tau characterize the cerebral cortex and white matter of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 1992; **140**: 937-45.