

Hitzebehandlung im Wasserbad

Einleitung:

Eine besondere praktische und leicht verfügbare Hitzequelle für die Antigendemaskierung ist das konventionelle Wasserbad mit regulierbarer Temperatur bis 100°C. Kawai et al. (1994) haben gezeigt, dass das Erhitzen der Gewebeschnitte (in 0.01 M Citratpuffer, pH 6.0) in einem auf 90°C temperierten Wasserbad ein zufriedenstellendes *Target Retrieval*-Verfahren darstellt [1]. Allerdings können mit Temperaturen knapp unterhalb des Siedepunktes von Wasser (95-99°C) Antigene noch effizienter und in kürzerer Zeit demaskiert werden. Einer der Vorteile der Wasserbad-Methode ist, dass in den meisten Laboren Wasserbäder bereits vorhanden sind. Ein weiterer Vorteil ist, dass ein Auffüllen verlorengegangener *Target Retrieval* -Puffers nicht notwendig ist, da die Temperatur im Vergleich zu anderen Methoden, bei denen es zu Siedeverzug kommt, unter dem Siedepunkt gehalten wird. Ein Nachteil dieser Wasserbad -Methode ist allerdings, dass die Behandlung, um eine vergleichbare Färbung zu erhalten, in der Regel länger dauert als im Mikrowellengerät.

Benötigtes Material:

- Wasserbad mit Thermostat
- Inkubationskammer und Objektträgerhalter
- Target Retrieval-Puffer (Dako-Code -Nr. S2031)

Zur Vorbereitung der Schnitte:

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.

Wasserbadmethode:

1. Coplin-Färbetrog oder anderen geeigneten Behälter mit ausreichend *Target Retrieval*-Puffer füllen. Behälter in das Wasserbad stellen und auf 95 -99°C erhitzen (nicht kochen).
2. Objektträger in den Objektträgerhalter einsetzen und in den vorgeheizten *Target Retrieval*-Puffer im Wasserbad eintauchen. Für 20-40 Minuten inkubieren.
3. Behälter mit den Objektträgern aus dem Wasserbad nehmen. 20 Minuten bei RT abkühlenlassen.
4. Mit TBS oder PBS oder Wasser bei RT spülen.
5. Mit destilliertem Wasser spülen.
6. Endogene Peroxidase blockieren (für Immunperoxidase-Methoden), und die Objektträger in destilliertes Wasser stellen.
7. Mit TBS oder PBS spülen.
8. Mit der gewählten immunhistochemischen Färbetechnik fortfahren.

Wartung:

Keine.

Anmerkung zur Sicherheit:

Aus dem Wasserbad entweicht heißer Dampf. Der Gebrauch von Isolierhandschuhen wird empfohlen.

Literatur:

[1] Kawai K, Serizawa A, Hamana T, Tsutsumi Y. Heat-induced antigen retrieval of proliferating cell nuclear antigen and p53 protein in formalin-fixed, paraffin-embedded sections. *Pathol Int* 1994; 44:759-64.