

BioGenex
48810 Kato Road, Suite 100E & 200E,
Fremont, CA 94538

CE
EC/REP
Emergo Europe,
Prinsessegracht
20 2514 AP
The Hague,
The Netherlands

Tel : +1 (800) 421-4149,
Fax: +1 (510) 824-1490,
support@biogenex.com

LINKS AND LABELS

Doc. No. 932-HK268E-4 Rev. No. I
Release Date: 10-Aug-2020

ENGLISH

Intended Use

Biotinylated secondary antibodies (Links) and streptavidin-enzyme conjugates (Labels) are intended for in vitro diagnostic use for the detection of primary antibodies in paraffin-embedded tissue sections, cryostat sections, cell monolayers and whole mounts.

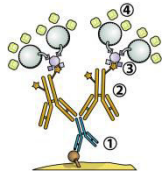
Summary and Explanation

Ready to use links and labels are optimized for use with ready-to-use (RTU) antibodies. The links are available as either species specific or Multilink® secondary antibodies. Multilink® permits detection of mouse IgG and IgM and rabbit immunoglobulins, providing a universal link reagent for use with most monoclonal and polyclonal antibodies. Concentrated links and labels are applied with recommended dilutions for use with antibodies. The working solutions are stable for 6 months when diluted and stored under recommended conditions. The concentrated links should be diluted with Link Diluent (Cat. No. HK165-5K, except for concentrated goat link which should be diluted with HK156-5K). Concentrated peroxidase labels should be diluted in streptavidin peroxidase Diluent (Cat. No. HK157-5K), while concentrated alkaline phosphatase labels should be diluted with Common Antibody Diluent (Cat. No. HK156-5K)

Principles of the Procedure

Antigens in tissues and cells are detected by a two-stage process—the binding of the primary antibody to a specific epitope, and the subsequent detection of this binding by a colorimetric reaction. Tissues or cell preparations are frozen or fixed, sectioned, and attached to slides. The sections are then dewaxed if paraffin-embedded, treated with an antigen retrieval solution if required, may be blocked with required blocking solutions and then incubated with a primary antibody (1). The bound primary antibody is detected by the serial addition of biotinylated secondary antibody or Link (2), Streptavidin-enzyme conjugate or Label (3), and substrate (4). When adequate color development is seen, the slides are washed in water to stop the reaction, counterstained, and covered with a mounting medium. With this detection system, signal amplification is achieved by the binding of multiple units of secondary antibody to each primary antibody molecule, followed by the binding of multiple enzyme conjugates to each secondary antibody, and finally the enzymatic conversion of the substrate.

Reagents Provided



One of the following:

1 vial (6, 17, 50, or 100 ml) of ready-to-use Link (biotinylated anti-immunoglobulin in PBS with carrier protein, and 0.09% sodium azide).

1 vial (6, 17, 50, or 100 ml) of ready-to-use HRP Label (horseradish peroxidase-conjugated streptavidin in PBS with carrier protein and 0.1% Proclin 300).

1 vial (6, 17, 50 or 100 ml) of ready-to-use AP Label (alkaline phosphatase-conjugated streptavidin in PBS with carrier protein and 0.09% sodium azide).

1 vial (5 ml) of Concentrated Link (biotinylated anti-immunoglobulin in PBS with carrier protein, 0.09% sodium azide).

1 vial (5 ml) of Concentrated HRP Label (horseradish peroxidase-conjugated streptavidin in PBS with carrier protein and 0.1% Proclin 300).

1 vial (5 ml) of Concentrated AP Label (alkaline phosphatase-conjugated streptavidin in PBS with carrier protein and 0.09% sodium azide).

Cat. No.	Description
HK335-5ME	Super Sensitive Mouse Link (biotinylated goat anti-mouse Ig)
HK336-5R, 9R	Super Sensitive Rabbit Link (biotinylated goat anti-rabbit Ig)
HK340-5K, 9K	Super Sensitive Multilink® (biotinylated goat anti-Ig; for use with mouse and rabbit primary antibodies)
HK330-5K, 9K	Super Sensitive HRP Label (peroxidase-conjugated streptavidin)
HK331-5K, 9K	Super Sensitive AP Label (alkaline phosphatase-conjugated streptavidin)
HK268-UKE	Concentrated Multilink® (biotinylated anti-Ig; for use with mouse, rabbit, guinea pig, and rat primary antibodies)
HK320-UKE	Concentrated HRP Label (peroxidase-conjugated streptavidin)
HK321-UKE	Concentrated AP Label (alkaline phosphatase-conjugated streptavidin)

For Use in Manual Procedures and with BioGenex Automated Staining Systems

Reagents Required but Not Supplied

EZ-DeWax™ Solution (optional), Antigen retrieval solutions (optional), Blocking solutions, Primary antibodies, Link/ Label, substrates, Counterstain and mounting medium.

Storage and Handling

Store all reagents at 2-8°C. Do not use after expiration dates as indicated on the reagent labels.

Specimen Preparation

Tissues fixed in 10% (v/v) formalin prior to paraffin embedding are suitable for use. Consult references (Kiernan, 1981; Sheehan & Hrapchak, 1980) for further details on specimen preparation.

Precautions

Links and alkaline phosphatase Labels contain sodium azide at concentrations of less than 0.1%. Sodium azide is not classified as a hazardous chemical at the concentration of this product. However, toxicity information regarding sodium azide at the product’s concentration has not been thoroughly investigated. For more information, a Material Safety Data Sheet (MSDS) for sodium azide in pure form is available upon request.

Buffers containing sodium azide should not be used to dilute peroxidase labels. Links and alkaline phosphatase labels may be diluted in Common Antibody Diluent, and peroxidase labels may be diluted in Streptavidin Peroxidase Diluent, both available from BioGenex. These reagents can also be titrated to different sensitivity levels to match the user’s application; however, this and use of other diluents should be tested extensively and validated in the user’s laboratory.

Preparation of Working Solutions

Dilute Concentrated Links and Labels 1:20 with the appropriate recommended diluent.

Staining Protocol

- BioGenex ready-to-use Links and Labels have been optimized for use with BioGenex ready-to-use primary antibodies.
- After application of the primary antibody, tissue sections should be rinsed well with PBS at room temperature prior to addition of the Link.
- Carefully wipe excess liquid from around the tissue section. Apply sufficient Link (1-2 drops) to cover the section entirely, and incubate for 20 minutes at room temperature or 5 minutes at 37°C. Rinse well with PBS.
- Carefully wipe excess liquid from around the tissue section. Apply sufficient Label (1-2 drops) to cover the section entirely, and incubate for 20 minutes at room temperature or 5 minutes at 37°C. Rinse well with PBS.
- Sections are now ready for application of a suitable enzyme substrate.
- Note: refer to your BioGenex Automated Stainer operator’s manual for use of these products in automated procedures.

Quality Control

Refer to the appropriate detection system package inserts for guidance on general quality control procedures.

Trouble shooting

Run appropriate positive and negative controls to ensure the optimal signal.

Refer to the troubleshooting section in the package inserts of BioGenex Super Sensitive Detection Systems (or other equivalent detection systems) for remedial actions on detection system related issues, or contact BioGenex Technical Service Department at (925) 275-0550 to report unusual staining

Expected Results

The colored pigment deposition will be seen at the site of antigen-antibody reaction. The color signal can be visualized using light microscopy.

Limitations of the procedure

Immunohistochemistry (IHC) is a complex technique involving both histological and immunological detection methods. Tissue processing and handling prior to immunostaining can also cause inconsistent results. Variations in fixation and embedding or the inherent nature of the tissue may cause variations in results (Nadji and Morales, 1983). Endogenous peroxidase activity or pseudoperoxidase activity in erythrocytes and endogenous biotin may cause non-specific staining depending on detection system used. Tissues containing hepatitis B surface antigen (HBsAg) may give false positive with horse radish peroxidase systems. (Omata M et al, 1980). Improper counterstaining and mounting may compromise the interpretation of results.

Performance Characteristics

BioGenex has conducted studies to evaluate the performance of all its links and labels using several BioGenex antibodies and detection systems. BioGenex links and labels have shown reproducible and consistent results when used within a single run, between runs, between lots and wherever applicable between manual and automated runs. The products have been determined to be stable for the periods specified on the labels either by standard real time or accelerated testing methods. BioGenex ensures product quality through 100% quality control for all products released and through surveillance programs.

ITALIANO, ITALIAN

Uso previsto

Gli anticorpi secondari biotinilati (Link) e i coniugati streptavidina-enzima (Label) sono destinati all'uso diagnostico in vitro per il rilevamento di anticorpi primari, in sezioni di tessuto incluse in paraffina, sezioni criostatiche, monostrati cellulari e whole mount.

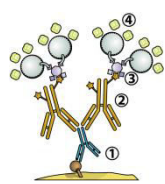
Riassunto e spiegazione

I link e i label pronti per l'uso sono ottimizzati per essere impiegati con anticorpi pronti per l'uso (RTU). I link sono disponibili come anticorpi secondari specie-specifici o come anticorpi Multilink®. Gli anticorpi Multilink® permettono il rilevamento di IgG e IgM di topo e di immunoglobuline di coniglio, fornendo un reagente legante universale per l'uso con la maggior parte degli anticorpi monoclonali e policlonali. Link e label concentrati sono applicati secondo le diluizioni raccomandate per l'uso con gli anticorpi. Le soluzioni di lavoro rimangono stabili per 6 mesi, se diluite e conservate alle condizioni raccomandate. I link concentrati devono essere diluiti con Link Diluent (N. di catalogo HK165-5K, escluso il link di capra che deve essere diluito con HK156-5K). I label concentrati a base di perossidasi devono essere diluiti con Streptavidin Peroxidase Diluent (N. di catalogo HK157-5K, mentre i label concentrati a base di fosfatasi alcalina devono essere diluiti con Common Antibody Diluent (N. di catalogo HK156-5K).

Principi della procedura

Gli antigeni presenti in tessuti e cellule sono rilevati tramite un processo a due stadi: il legame dell'anticorpo primario con un epitopo specifico e il successivo rilevamento di questo legame mediante reazione colorimetrica. I tessuti o le preparazioni cellulari sono congelate o fissate, sezionate e poste sui vetrini. Le sezioni sono poi sparaffinate, se incluse in paraffina, trattate con una soluzione per antigen retrieval, se necessario, possono eventualmente essere bloccate con apposite soluzioni di blocco e sono quindi incubate con un anticorpo primario (1). L'anticorpo primario legato è rilevato mediante l'aggiunta in serie di anticorpo secondario biotinilato o di Link (2), di coniugato streptavidina-enzima o di Label (3) e di substrato (4). Quando si osserva un'idonea colorazione, i vetrini sono lavati in acqua per arrestare la reazione, sono controcolorati e ricoperti con un terreno di montaggio. Con questo sistema di rivelazione, si ottiene l'amplificazione del segnale legando più unità di anticorpo secondario ad ogni molecola di anticorpo primario, con il successivo legame di più coniugati enzimatici ad ogni anticorpo secondario e infine con la conversione enzimatica del substrato.

Reagenti forniti



Uno dei seguenti:

1 fiala (da 6, 17, 50 o 100 ml) di Link pronto per l'uso (anti-immunoglobulina biotinilata in PBS con proteina trasportatrice e sodio azide allo 0,09%).

1 fiala (da 6, 17, 50 o 100 ml) di HRP Label pronto per l'uso (streptavidina coniugata con perossidasi di rafano in PBS con proteina trasportatrice e Proclin 300 allo 0,1%).

1 fiala (da 6, 17, 50 o 100 ml) di AP Label pronto per l'uso (streptavidina coniugata con fosfatasi alcalina in PBS con proteina trasportatrice e sodio azide allo 0,09%).

1 fiala (da 5 ml) di Link concentrato (anti-immunglobulina biotinilata in PBS con proteina trasportatrice e sodio azide allo 0,09%).

1 fiala (da 5 ml) di HRP Label concentrato (streptavidina coniugata con perossidasi di rafano in PBS con proteina trasportatrice e Proclin 300 allo 0,1%).

1 fiala (da 5 ml) di AP Label concentrato (streptavidina coniugata con fosfatasi alcalina in PBS con proteina trasportatrice e sodio azide allo 0,09%).

N. di catalogo	Descrizione
HK335-5ME	Super Sensitive Mouse Link (Ig di capra anti-topo biotinilate)
HK336-5R, 9R	Super Sensitive Rabbit Link (Ig di capra anti-coniglio biotinilate)
HK340-5K, 9K	Super Sensitive (capra biotinilate anti-Ig, per l'uso con anticorpi di topo e primari coniglio)
HK330-5K, 9K	Super Sensitive HRP Label (streptavidina coniugata con perossidasi)
HK331-5K, 9K	Super Sensitive AP Label (streptavidina coniugata con fosfatasi alcalina)
HK325-UM	Concentrated Mouse Link (Ig anti-topo biotinilate)
HK320-UKE	Concentrated HRP Label (streptavidina coniugata con perossidasi)
HK321-UKE	Concentrated AP Label (streptavidina coniugata con fosfatasi alcalina)

Per l'uso con procedure manuali e coi BioGenex Automated Staining Systems

Reagenti necessari, ma non forniti

EZ-DeWax™ Solution (opzionale), soluzioni per antigen retrieval (opzionali), soluzioni bloccanti, anticorpi primari, Link/Label, substrati, colorazione di contrasto e mezzo di montaggio.

Conservazione e manipolazione

Conservare tutti i reagenti a 2-8°C. Non utilizzare dopo la data di scadenza impressa sull'etichetta dei diversi reagenti.

Allestimento de i campioni

Sono idonei all'uso i tessuti fissati in formalina al 10% (v/v), prima dell'inclusione in paraffina. Consultare i riferimenti bibliografici (Kieman, 1981; Sheehan & Hrapchak, 1980) per ulteriori dettagli sulla preparazione dei campioni.

Precauzioni

I Link e i Label a base di fosfatasi alcalina contengono sodio azide in concentrazione inferiore allo 0,1%. La sodio azide non è classificata come sostanza chimica pericolosa, al grado di concentrazione presente nel prodotto. Peraltro, i dati di tossicità relativi alla sodio azide, al grado di concentrazione presente nel prodotto, non sono stati verificati. Per maggiori informazioni, è disponibile a richiesta una Scheda informativa sulla sicurezza dei materiali (MSDS), riguardante la sodio azide in forma pura. Non utilizzare soluzioni tampone contenenti sodio azide per diluire i label a base di perossidasi. Link e label a base di fosfatasi alcalina possono essere diluiti con Common Antibody Diluent, mentre i label a base di perossidasi possono essere diluiti con Streptavidin Peroxidase Diluent, entrambi disponibili presso BioGenex. Questi reagenti possono anche essere titolati a livelli diversi di sensibilità, in modo da corrispondere all'applicazione dell'utilizzatore; peraltro, questi reagenti e altri diluenti eventualmente impiegati devono essere analizzati in modo approfondito e convalidati presso il laboratorio dell'utilizzatore.

Preparazione delle soluzioni di lavoro

Diluire i Link e i Label concentrati in un rapporto di 1:20 con il relativo diluente consigliato.

Protocollo di colorazione

- I Link e i Label BioGenex pronti per l'uso sono stati ottimizzati per essere impiegati con anticorpi BioGenex pronti per l'uso.
- Dopo l'applicazione dell'anticorpo primario, risciacquare bene le sezioni di tessuto con PBS a temperatura ambiente, prima di aggiungere il Link.
- Rimuovere il liquido in eccesso tutt'attorno alla sezione di tessuto. Applicare il Link (1-2 gocce) in quantità sufficiente da ricoprire interamente la sezione e incubare per 20 minuti a temperatura ambiente o per 5 minuti a 37°C. Risciacquare bene con PBS.
- Rimuovere il liquido in eccesso tutt'attorno alla sezione di tessuto. Applicare il Label (1-2 gocce) in quantità sufficiente da ricoprire interamente la sezione e incubare per 20 minuti a temperatura ambiente o per 5 minuti a 37°C. Risciacquare bene con PBS.
- Ora le sezioni di tessuto sono pronte per l'applicazione di un idoneo substrato enzimatico.
- Nota: per l'uso di questi prodotti in procedure automatizzate, consultare il Manuale operatore del sistema automatico di colorazione BioGenex.

Controllo qualità

Consultare il foglietto illustrativo del sistema di rivelazione utilizzato per istruzioni sulle procedure generali di controllo qualità.

Risoluzione dei problemi

Eseguire opportuni controlli positivi e negativi per assicurare un segnale ottimale. Consultare la sezione "Risoluzione dei problemi" dei foglietti illustrativi dei BioGenex Super Sensitive Detection Systems (o di sistemi di rivelazione equivalenti) per azioni correttive su questioni relative ai sistemi di rivelazione, oppure rivolgersi al Servizio di Assistenza Tecnica BioGenex, al numero 800 421 4149, per riferire casi di colorazione inconsueta.

Risultati attesi

Si potrà osservare il deposito del pigmento colorato nel sito della reazione antigene-anticorpo. Il segnale del colore può essere visualizzato con microscopio luminoso.

Limiti della procedura

L'immunoistochimica (IHC) è una tecnica complessa, che si avvale sia del metodo di rivelazione istologico, sia del metodo immunologico. Il trattamento e la manipolazione del tessuto prima della colorazione possono anche comportare risultati inattendibili. Le variazioni nella fissazione e nell'inclusione o la natura intrinseca del tessuto possono indurre alterazioni nei risultati (Nadji e Morales, 1983). L'attività della perossidasi endogena o della pseudoperoxidasi negli eritrociti e la biotina endogena possono causare una colorazione aspecifica, in funzione del sistema di rivelazione utilizzato. I tessuti contenenti l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg) possono dare risultati falsi positivi con sistemi a base di perossidasi di rafano (Omata, et al, 1980). Una colorazione di contrasto ed un montaggio impropri possono compromettere l'interpretazione dei risultati.

Caratteristiche funzionali

La BioGenex ha condotto diversi studi per valutare l'efficacia di tutti i suoi link e label, utilizzando diversi sistemi di rivelazione e anticorpi BioGenex. I link e i label Biogenex hanno mostrato risultati riproducibili e coerenti, quando sono stati utilizzati nell'ambito di un singolo ciclo, tra più cicli, tra più lotti, nonché quando sono risultati applicabili tra cicli automatici e cicli manuali. Si è potuto determinare che tali prodotti rimangono stabili per i periodi indicati sulle relative etichette, sia secondo il tempo reale standard sia in base a metodi di test accelerati. BioGenex assicura la qualità del prodotto grazie ad un controllo qualità al 100% su tutti i prodotti forniti e grazie a programmi di sorveglianza.

DEUTSCH, GERMAN

Verwendungszweck

Biotinylierte sekundäre Antikörper (Links) und Streptavidin-Enzym-Konjugate (Labels) dienen in der In-vitro-Diagnostik zum Nachweis von primären Antikörpern in Paraffin-eingebetteten Gewebeschnitten, Kryostat-Schnitten, Zell-Monolayern und Ganzpräparaten.

Zusammenfassung und Erklärung

Gebrauchsfertige Links und Labels sind für die Verwendung mit gebrauchsfertigen (RTU) Antikörpern optimiert. Die Links sind entweder spezifisch nach Spezies oder als Multilink® sekundäre Antikörper erhältlich. Multilink® erlaubt den Nachweis von Maus-IgG und -IgM und Kaninchen-Immunglobulinen und ist damit ein universelles Link-Reagenz zur Verwendung mit den meisten monoklonalen und polyklonalen Antikörpern. Konzentrierte Links und Labels werden in den für die Verwendung mit Antikörpern empfohlenen Verdünnungen angewandt. Die Arbeitslösungen sind verdünnt und bei Lagerung unter den empfohlenen Bedingungen 6 Monate lang stabil. Die konzentrierten Links sollten mit Link Diluent (Kat. Nr. HK165-5K, außer konzentriertem Ziegen-Link, der mit HK156-5K zu verdünnen ist) verdünnt werden. Konzentrierte Peroxidase-Labels sollten in Streptavidin-Peroxidase Diluent (Kat. Nr. HK157-5K) verdünnt werden, konzentrierte alkalische Phosphatase-Labels mit Common Antibody Diluent (Kat. Nr. HK156-5K)

Prinzipien des Verfahrens

Antigene in Geweben und Zellen werden durch ein zweiphasiges Verfahren nachgewiesen – Bindung des primären Antikörpers an ein spezifisches Epitop und anschließenden Nachweis dieser Bindung durch eine kolorimetrische Reaktion. Gewebeschnitte oder Zellpräparate werden eingefroren oder fixiert, geschnitten und auf Objektträger gebracht. Die Schnitte werden dann entwacht, wenn sie Paraffin-eingebettet sind, falls erforderlich mit einer Antigen-Wiederherstellungslösung behandelt, eventuell mit den benötigten Blockierungslösungen blockiert und dann mit einem primären Antikörper inkubiert (1). Der gebundene primäre Antikörper wird durch die serielle Zugabe von biotinyliertem sekundärem Antikörper oder Link (2), Streptavidin-Enzym-Konjugat oder Label (3) und Substrat (4) nachgewiesen. Wenn eine adäquate Farbentwicklung zu sehen ist, werden die Objektträger in Wasser gewaschen, um die Reaktion zu stoppen, gegengefärbt und mit einem Fixiermittel abgedeckt. Bei diesem Nachweissystem wird eine Signalverstärkung dadurch erreicht, dass mehrere Einheiten von sekundärem Antikörper an jedes primäre Antikörper-Molekül gebunden werden, gefolgt von der Bindung mehrerer Enzymkonjugate an jeden sekundären Antikörper und schließlich der enzymatischen Umwandlung des Substrats.

Mitgelieferte Reagenzien

Eines der folgenden:

1 Fläschchen (6, 17, 50 oder 100 ml) gebrauchsfertiger Link (biotinyliertes Anti-Immunglobulin in PBS mit Carrierprotein und 0,09 % Natriumazid).

1 Fläschchen (6, 17, 50 oder 100 ml) gebrauchsfertiges HRP Label (Meerrettich-Peroxidase-konjugiertes Streptavidin in PBS mit Carrierprotein und 0,1 % Proclin 300).

1 Fläschchen (6, 17, 50 oder 100 ml) gebrauchsfertiges AP Label (mit alkalischer Phosphatase konjugiertes Streptavidin in PBS mit Carrierprotein und 0,09 % Natriumazid).

1 Fläschchen (5 ml) Concentrated Link (biotinyliertes Anti-Immunglobulin in PBS mit Carrierprotein und 0,09 % Natriumazid).

1 Fläschchen (5 ml) Concentrated HRP Label (Meerrettich-Peroxidase-konjugiertes Streptavidin in PBS mit Carrierprotein und 0,1 % Proclin 300).

1 Fläschchen (5 ml) Concentrated AP Label (mit alkalischer Phosphatase konjugiertes Streptavidin in PBS mit Carrierprotein und 0,09 % Natriumazid).

Kat. Nr.	Bezeichnung
HK335-5ME	Super Sensitive Mouse Link (biotinyliertes Ziegen-Anti-Maus-Ig)
HK336-5R, 9R	Super Sensitive Rabbit Link (biotinyliertes Ziegen-Anti-Kaninchen-Ig)
HK340-5K, 9K	Super Sensitive Multilink® (biotinyliertes Ziegen- Anti-Ig; zur Verwendung mit primären Maus-, und Kaninchen- Antikörpern)
HK330-5K, 9K	Super Sensitive HRP Label (Peroxidase-konjugiertes Streptavidin)
HK331-5K, 9K	Super Sensitive AP Label (mit alkalischer Phosphatase konjugiertes Streptavidin)
HK268-UKE	Concentrated Multilink® (biotinyliertes Anti-Ig; zur Verwendung mit primären Maus-, Kaninchen-, Meerschweinchen- und Ratten-Antikörpern)
HK320-UKE	Concentrated HRP Label (Peroxidase-konjugiertes Streptavidin)
HK321-UKE	Concentrated AP Label (mit alkalischer Phosphatase konjugiertes Streptavidin)

Zur Verwendung bei manuellen Verfahren und mit BioGenex Automated Staining Systems

Benötigte Materialien (nicht im Lieferumfang)
EZ-DeWax™ Solution (optional), Antigen-Wiederherstellungslösungen (optional), Blockierungslösungen, primäre Antikörper, Link/Label, Substrate, Gegenfärbung und Fixiermittel.

Lagerung und Handhabung

Alle Reagenzien bei 2–8 °C lagern. Nicht nach dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.

Probenvorbereitung

Vor der Paraffineinbettung in 10 % (v/v) Formalin fixierte Gewebe sind für die Verwendung geeignet. Weitere Einzelheiten zur Probenvorbereitung siehe Literaturangaben (Kiernan, 1981; Sheehan & Hrapchak, 1980).

Vorsichtsmaßnahmen

Links und alkalische Phosphatase-Label enthalten Natriumazid in Konzentrationen von weniger als 0,1 %. Natriumazid wird in diesen Produktkonzentrationen nicht als gefährliche Chemikalie eingestuft. Daten zur Toxizität von Natriumazid in der Produktkonzentration sind jedoch bislang nicht gründlich erforscht. Für weitere Informationen ist ein Material-Sicherheitsdatenblatt (MSDS) für Natriumazid in Reinform auf Anfrage erhältlich.

Puffer, die Natriumazid enthalten, sollten nicht zur Verdünnung von Peroxidase-Labels verwendet werden. Links und alkalische Phosphatase-Labels können in Common Antibody Diluent und Peroxidase-Labels in Streptavidin Peroxidase Diluent verdünnt werden, beides erhältlich von BioGenex. Diese Reagenzien können auch auf verschiedene Empfindlichkeitswerte titriert werden, damit sie der jeweiligen Anwendung entsprechen; dies sowie die Verwendung anderer Verdünnungsmittel sollte jedoch im Labor des Anwenders ausgiebig getestet und bestätigt werden.

Zubereitung von Arbeitslösungen

Konzentrierte Links und Labels 1:20 mit dem geeigneten, empfohlenen Verdünnungsmittel verdünnen.

Färbeprotokoll

- BioGenex gebrauchsfertige Links und Labels sind für die Verwendung mit BioGenex gebrauchsfertigen primären Antikörpern optimiert.
- Nach der Applikation des primären Antikörpers sollten Gewebeschnitte vor Zugabe des Links gründlich mit PBS bei Raumtemperatur gespült werden.
- Überschüssige Flüssigkeit in der Umgebung des Gewebeschnitts sorgfältig abwischen. Ausreichend Link (1–2 Tropfen) hinzugeben, um den Schnitt vollständig abzudecken, und 20 Minuten bei Raumtemperatur oder 5 Minuten bei 37 °C inkubieren. Gründlich mit PBS abspülen.
- Überschüssige Flüssigkeit in der Umgebung des Gewebeschnitts sorgfältig abwischen. Ausreichend Label (1–2 Tropfen) hinzugeben, um den Schnitt vollständig abzudecken, und 20 Minuten bei Raumtemperatur oder 5 Minuten bei 37 °C inkubieren. Gründlich mit PBS abspülen.
- Die Schnitte sind nun bereit für die Applikation eines geeigneten Enzymsubstrats.
- (Hinweis: Im Bedienungshandbuch des BioGenex Automated Stainer sind weitere Informationen zur Verwendung dieser Produkte bei automatischen Verfahren enthalten.

Qualitätskontrolle

Siehe entsprechende Packungsbeilagen der Nachweissysteme zu Informationen über Richtlinien für allgemeine Verfahren zur Qualitätskontrolle.

Fehlerbebung

Geeignete positive und negative Kontrollen mitlaufen lassen, um das optimale Signal sicherzustellen.

Siehe Abschnitt Fehlerbehebung in den Packungsbeilagen der BioGenex Super Sensitive Detection Systems (oder anderer gleichwertiger Nachweissysteme) über mögliche Gegenmaßnahmen bei Problemen mit dem Nachweissystem oder die Abteilung Technischer Kundendienst von BioGenex unter (925) 275-0550 verständigen, um ungewöhnliche Anfärbungen zu melden.

Erwartete Ergebnisse

Die farbige Pigmentablagerung ist an der Stelle der Antigen-Antikörper-Reaktion zu sehen. Das Farbsignal kann lichtmikroskopisch betrachtet werden.

Einschränkungen des Verfahrens

Immunohistochemie (IHC) ist eine komplexe Technik, an der sowohl histologische als auch immunologische Nachweismethoden beteiligt sind. Eine Verarbeitung und Handhabung von Gewebe vor der Immunfärbung kann ebenfalls inkonsistente Ergebnisse verursachen. Abweichungen bei der Fixierung und Einbettung oder die inhärente Gewebebeschaffenheit

können zu Abweichungen bei den Ergebnissen führen (Nadji and Morales, 1983). Endogene Peroxidase-Aktivität oder Pseudoperoxidase-Aktivität in Erythrozyten und endogenes Biotin können abhängig vom verwendeten Nachweissystem unspezifische Anfärbung verursachen. Gewebe, die Hepatitis B Oberflächenantigen (HBsAg) enthalten, können falsch positiv mit Meerrettich-Peroxidase-Systemen reagieren (Omata M et al, 1980). Unsachgemäße Gegenfärbung und Fixierung können die Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.

Leistungsmerkmale

BioGenex hat Untersuchungen zur Beurteilung der Leistungsfähigkeit aller Links und Labels unter Verwendung verschiedener BioGenex Antikörper und Nachweissysteme durchgeführt. BioGenex Links und Labels haben reproduzierbare und konsistente Ergebnisse gezeigt, bei Verwendung innerhalb eines einzigen Durchlaufs, bei verschiedenen Durchläufen, mit verschiedenen Chargen und, falls zutreffend, auch beim Vergleich zwischen manuellen und automatisierten Durchläufen. Die Produkte wurden für die auf den Etiketten angegebenen Zeiträume als stabil bestimmt, entweder mit Standard-Echtzeit- oder beschleunigten Testmethoden. BioGenex sichert die Produktqualität durch 100%ige Qualitätskontrolle für alle freigegebenen Produkte und durch Überwachungsprogramme.

ESPANOL, SPANISH

Uso previsto

Los anticuerpos secundarios biotinilados (Links) y los conjugados estreptavidina-enzima (Labels) son para uso diagnóstico in vitro, para la detección de anticuerpos primarios en cortes de tejido embebidos en parafina, cortes de criostato, monocapas celulares y preparaciones enteras.

Resumen y explicación

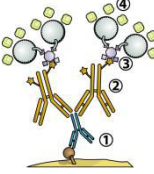
Los Links y Labels listos para su uso están optimizados para usarse con anticuerpos listos para su uso (RTU). Los Links se suministran como específicos de especie o anticuerpos secundarios Multilink®. Multilink® permite detectar IgG e IgM de ratón e inmunoglobulinas de conejo, proporcionando un reactivo de unión universal para usar con la mayoría de anticuerpos monoclonales y policlonales. Los Links y Labels concentrados se aplican con las diluciones recomendadas para su uso con anticuerpos. Las soluciones de trabajo son estables durante 6 meses cuando se diluyen y almacenan en las condiciones recomendadas.

Los Links concentrados se deben diluir con Link Diluent (Nº de ref. HK165-5K, excepto el Link de cabra concentrado, que se debe diluir con HK156-5K). Los Labels de peroxidasa concentrados se deben diluir con Streptavidin Peroxidase Diluent (Nº de ref. HK157-5K), mientras que los Labels de fosfatasa alcalina concentrados se deben diluir con Common Antibody Diluent (Nº de ref. HK156-5K).

Principios del procedimiento

Los antígenos que existen en tejidos y células se detectan en un proceso de dos etapas: la unión del anticuerpo primario a un epítipo específico y la detección posterior de esta unión por una reacción colorimétrica. Los tejidos o preparados celulares se congelan o fijan, se cortan y se adhieren a los portaobjetos. Se elimina la cera de los cortes si éstos se han embebido en parafina, se tratan con una solución de recuperación del antígeno si es necesario, se pueden bloquear con las soluciones de bloqueo requeridas, y después se incuban con un anticuerpo primario (1). El anticuerpo primario unido se detecta por la adición sucesiva de anticuerpo secundario biotinilado o Link (2), conjugado estreptavidina-enzima o Label (3), y sustrato (4). Cuando se observa el desarrollo adecuado del color, se lavan los portaobjetos en agua para detener la reacción, se contratiñen y se cubren con un medio de preparación. Con este sistema de detección, la amplificación de la señal se consigue por la unión de múltiples unidades anticuerpo secundario a cada molécula de anticuerpo primario, seguida por la unión de múltiples conjugados de enzimas a cada anticuerpo secundario y, finalmente, por la conversión enzimática del sustrato.

Reactivos suministrados



1 vial (5 ml) de Link concentrado (antiinmunoglobulina biotinilada en PBS con proteína transportadora y un 0,09% de azida sódica).

1 vial (5 ml) de HRP Label concentrado (estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano en PBS con proteína transportadora y un 0,1% de Proclin 300).

1 vial (5 ml) de HRP Label concentrado (estreptavidina conjugada con fosfatasa alcalina en PBS con proteína transportadora y un 0,09% de azida sódica).

Nº de ref.	Descripción
HK335-5ME	Super Sensitive Mouse Link (Ig de cabra antirratón biotinilada)
HK336-5R, 9R	Super Sensitive Rabbit Link (Ig de cabra anticonejo biotinilada)
HK340-5K, 9K	Super Sensitive Multilink® (cabra biotinilado anti-Ig, para su uso con anticuerpos de ratón y primaria conejo)
HK330-5K, 9K	Super Sensitive HRP Label (estreptavidina conjugada con peroxidasa)
HK331-5K, 9K	Super Sensitive AP Label (estreptavidina conjugada con fosfatasa alcalina)
HK268-UKE	Concentrated Multilink® (anti-Ig biotinilada; para usar con anticuerpos primarios de ratón, conejo, cobaya y rata)
HK320-UKE	Concentrated HRP Label (estreptavidina conjugada con peroxidasa)
HK321-UKE	Concentrated AP Label (estreptavidina conjugada con fosfatasa alcalina)

Para uso en procedimientos manuales y con BioGenex Automated Staining Systems (Sistemas de Tinción Automatizados de BioGenex).

Reactivos necesarios pero no suministrados

EZ-DeWax™ Solution (opcional), soluciones de recuperación del antígeno (opcional), soluciones de bloqueo, anticuerpos primarios, Link/ Label, sustratos, contratiñción y medio de preparación.

Almacenamiento y manipulación

Almacenar todos los reactivos a 2-8 °C. No usar después de las fechas de caducidad que se indican en las etiquetas de los reactivos.

Preparación de la muestra

Los tejidos fijados con formol al 10% (v/v) pueden utilizarse antes de embeberlos en parafina. Consultar en la bibliografía (Kiernan, 1981; Sheehan y Hrapchak, 1980) más detalles sobre la preparación de la muestra.

Precauciones

Los Links y Labels de fosfatasa alcalina contienen azida sódica en concentraciones menores al 0,1%. La azida sódica no se clasifica como producto químico peligroso en la concentración de este producto. No obstante, la toxicidad de la azida sódica en dicha concentración no se ha investigado con detalle. Para más información se puede solicitar una Hoja de Datos de Seguridad (MSDS) para azida sódica en su forma pura. Los tampones que contienen azida sódica no se deben usar para diluir los Labels de peroxidasa. Los Links y Labels de fosfatasa alcalina se pueden diluir en Common Antibody Diluent, y los Labels de peroxidasa se pueden diluir en Streptavidin Peroxidase Diluent, ambos suministrados por BioGenex. Estos reactivos también se pueden ajustar a diferentes niveles de sensibilidad para adaptarse a la aplicación del usuario; no obstante, el uso de éste y otros diluyentes debe estudiarse y validarse exhaustivamente en el laboratorio del usuario.

Temperatura Limitación

Preparación de las soluciones de trabajo

Diluya los Links y Labels concentrados 1:20 con el diluyente recomendado apropiado.

Protocolo de tinción

- Los Links y Labels listos para usar de BioGenex han sido optimizados para su uso con los anticuerpos listos para usar de BioGenex.
- Después de aplicar el anticuerpo primario, los cortes de tejido se deben aclarar bien con PBS a temperatura ambiente antes de añadir el Link.
- Secar bien el exceso de líquido alrededor del corte de tejido. Aplicar suficiente Link (1-2 gotas) para cubrir todo el corte de tejido e incubarlo durante 20 minutos a temperatura ambiente, o durante 5 minutos a 37 °C. Aclarar bien con PBS.
- Secar bien el exceso de líquido alrededor del corte de tejido. Aplicar suficiente Label (1-2 gotas) para cubrir todo el corte de tejido e incubarlo durante 20 minutos a temperatura ambiente, o durante 5 minutos a 37 °C. Aclarar bien con PBS.
- Los cortes están ahora listos para la aplicación de un sustrato enzimático adecuado.
- Nota: Consulte el manual del usuario del Equipo Automático de Tinción de BioGenex para usar estos productos en los procedimientos automatizados.

Control de calidad

Consultar las normas sobre los procedimientos generales de control de calidad en las hojas de datos apropiados del sistema de detección.

Resolución de problemas

Analice los controles positivo y negativo apropiados para garantizar la señal óptima.

Consultar en la sección Resolución de problemas, en las hojas de datos de los BioGenex Super Sensitive Detection Systems (Sistemas de Detección Super Sensitive de BioGenex) (u otros sistemas de detección equivalentes), las acciones a emprender sobre aspectos relacionados con el sistema de detección, o ponerse en contacto con el Departamento de Servicio Técnico de BioGenex, al teléfono (925) 275-0550, para comunicar una tinción fuera de lo común.

Resultados esperados

El depósito de pigmento con color se verá en la zona de reacción antígeno-anticuerpo. La señal de color se puede visualizar usando el microscopio óptico.

Limitaciones del procedimiento

La inmunohistoquímica (IHC) es una técnica compleja que implica el uso de métodos de detección histológicos e inmunológicos. El procesado y la manipulación de los tejidos antes de la inmunotinción también puede dar resultados incoherentes. Los cambios en el proceso de fijación y embebido, o la propia naturaleza del tejido, pueden provocar variaciones en los resultados (Nadji y Morales, 1983). La actividad de la peroxidasa endógena o de la pseudoperoxidasa en los hematíes y de la biotina endógena puede provocar una tinción inespecífica, según el sistema de detección usado. Los tejidos que contienen el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) pueden dar resultados positivos falsos con sistemas de peroxidasa de rábano. (Omata M y cols., 1980). Una contratiñción y preparación inadecuadas pueden comprometer la interpretación de los resultados.

Características de funcionamiento

BioGenex ha realizado estudios para evaluar el funcionamiento de todos los Links y Labels usando varios anticuerpos y sistemas de detección de BioGenex. Los Links y Labels de BioGenex han mostrado resultados reproducibles y coherentes cuando se usan en un solo procedimiento, entre procedimientos, entre lotes, y siempre que proceda entre los procedimientos manuales y automatizados. Se ha determinado que los productos son estables durante los períodos que se especifican en las etiquetas, ya sea por métodos de tiempo real estándar o en condiciones aceleradas. BioGenex garantiza la calidad del producto mediante un control de calidad al 100% de todos los productos comercializados y mediante programas de seguimiento.

Bibliography

- Sheehan DC and Hrapchak BB. Theory and Practice of Histotechnology. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1980.
- Kiernan JA. Histological and Histochemical Methods: Theory and Practice. New York: Pergamon Press 1981.
- Nadji M, Morales AR. Immunoperoxidase, part I: the techniques and its pitfalls. Lab Med 1983; 14:767-770.
- Omata M, Liew CT, Ashcavi M, Peters RL. Nonimmunologic binding of horseradish peroxidase to hepatitis B surface antigen. A possible source of error in immuno histochemistry. Am J Clin Pathol 1980 May;73(5):626-632.

EC REP	Representative in the European Community <p>Mandatario nella Comunità Europea</p> Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft <p>Representante autorizado en la Comunità Europea</p>
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device <p>Dispositivo medico-diagnostico in vitro</p> In Vitro Diagnostikum <p>Producto sanitario para diagnóstico in vitro</p>
i	Consult Instructions for use <p>Consultare le istruzioni per l'uso</p> Gebrauchsanweisung beachten <p>Consulte las instrucciones de uso</p>
T	Temperature Limitation <p>Limiti di temperatura</p> Zulässiger Temperaturbereich <p>Limite de temperatura</p>
M	Manufacturer <p>Fabbricante</p> Hersteller <p>Fabri cante</p>