

Hitzebehandlung im Mikrowellengerät

Einleitung:

Das Erhitzen von wässrigen Lösungen im Mikrowellengerät ist eine sehr effiziente Methode [1-8]. Die Standardisierung des Verfahrens ist sehr wichtig: z.B. konstantes Volumen des verwendeten Target Retrieval-Puffers, konstante Gewebepreparation, konstante Anzahl an Objektträgern. Eine Änderung dieser Parameter beeinflusst die zur Erzielung optimaler Ergebnisse notwendig Inkubationszeit im Mikrowellengerät [3].

Wichtige Parameter sind:

- Wattleistung des Mikrowellengeräts und Vorhandensein eines Drehtellers. Man sollte Mikrowellengeräte mit einem Drehteller verwenden, da diese eine gleichmäßigere Erwärmung und somit gleichbleibend gute Ergebnisse gewährleisten.
- Wahl des Target Retrieval-Puffers (DAKO Code-Nr. S2031)
- Volumen des Target Retrieval-Puffers
- Anzahl der Objektträger
- Inkubationsdauer
- Abkühlungsdauer
- Nachzuweisendes Antigen

Benötigtes Material:

- Target Retrieval-Puffer
- 750 -800 Watt Haushalts-Mikrowellengerät mit Drehteller
- Kunststoffküvette für die Mikrowelle (DAKO Code -Nr. S2030) oder Coplin-Färbetröge aus hitzebeständigem Plastik
- Objektträgerhalter für die Mikrowelle aus hitzebeständigem Plastik (DAKO Code-Nr. S2029)
- Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte müssen silanisierte Objektträger (DAKO Code -Nr. S2024 oder S3003) oder mit anderen geeigneten Haftmitteln beschichtete Objektträger verwendet werden.

Protokoll:

Gewebeschnitte entparaffinieren und rehydrieren.

Mikrowellenmethode:

1. Objektträger in den Objektträgerhalter stecken. Freie Positionen mit leeren Objektträgern besetzen. Dies gewährleistet reproduzierbare Verhältnisse, d. h. jedes Mal wird die gleiche Menge Glas erhitzt.
2. 200 ml Target Retrieval-Puffer in die Inkubationskammer (Kunststoffküvette) füllen und den Objektträgerhalter hineinstellen. Kammer locker abdecken, um die Verdunstung möglichst gering zu halten.
3. Gefäß in die Mitte des Mikrowellengeräts stellen. Gewebeschnitte für 2 x 7 Minuten erhitzen. Behälter zwischen den beiden Behandlungen mit 50 ml destilliertem Wasser auffüllen. Die Gewebeschnitte dürfen während der Erwärmung unter keinen Umständen austrocknen.
4. Nach der zweiten Behandlung die Kammer aus dem Mikrowellengerät nehmen, und Schnitte für 15 -20 Minuten im Target Retrieval-Puffer bei RT abkühlen lassen.
5. Gewebeschnitte mit destilliertem Wasser spülen.
6. Endogene Peroxidase blockieren (für Immunperoxidase -Methoden), und Schnitte in destilliertes Wasser legen.

7. Mit TBS oder PBS spülen.
8. Mit der gewählten immunhistochemischen Färbetechnik fortfahren.

Pflege und Kontrolle des Mikrowellengeräts:

Die Ausgangsleistung des Mikrowellengeräts muss regelmäßig überprüft werden. Dies sollte vor der ersten Benutzung des Gerätes und dann alle 12 Monate geschehen. Eine Standardmethode wird im „Microwave cookbook for microscopists. Art and Science of Visualization. Appendix: A procedure for power output measurements of consumer microwave ovens“ empfohlen [9].

Achtung: Unter keinen Umständen dürfen sich im Mikrowellengerät während des Betriebs metallische Gegenstände befinden!

Literatur:

- [1] Shi S-R, Imam SA, Young L, Cote RJ, Taylor CR. Antigen retrieval immunohistochemistry under the influence of pH using monoclonal antibodies. J Histochem Cytochem 1995; 43:193-201.
- [2] Leong AS-Y, Milios J. An assessment of the efficacy of the microwave antigen -retrieval procedure on a range of tissue antigens. Appl Immunohistochem 1993; 1:267 -74
- [3] Taylor CR, Shi S-R, Cote RJ. Antigen retrieval for immunohistochemistry. Status and need for greater standardization. Appl Immunohistochem 1996; 4:144-66.
- [4] Werner M, von Wasielewski R, Komminoth P. Antigen retrieval, signal amplification and intensification in immunohistochemistry. Histochem Cell Biol 1996;105:253-60.