

# Hitzebehandlung im Schnellkochtopf

## Einleitung:

Das Erhitzen im Schnellkochtopf soll gleichmäßiger sein als bei anderen Methoden [1-3]. Ein Schnellkochtopf mit einem Betriebsdruck von etwa 103 kPa/15 psi gewährleistet eine Temperatur von etwa 120°C bei maximalem Druck. Empfohlen wird ein rostfreier Haushalts-Schnellkochtopf aus Stahl, da Töpfe aus Aluminium durch einige *Target Retrieval*-Puffer angegriffen werden können. Des Weiteren sollte der Kochtopf ein Volumen von 4-5.5 Liter haben, da man dadurch eine größere Anzahl von Gewebeschnitten gleichzeitig behandeln kann.

Wichtige Parameter sind:

- Wahl des *Target Retrieval* -Puffers
- Volumen des *Target Retrieval*-Puffers
- Hitzequelle
- Heizdauer
- Nachzuweisendes Antigen

## Benötigtes Material:

- Schnellkochtopf aus rostfreiem Stahl
- Elektrische Heizplatte
- *Target Retrieval*-Puffer (DAKO-Code-Nr. S 2031)
- Objektträgerhalter aus Metall

## 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:

Gewebeschnitte entparaffinieren und rehydrieren.

## Schnellkochtopf-Methode:

1. Schnellkochtopf zu zwei Dritteln mit dem geeigneten *Target Retrieval*-Puffer füllen und den Puffer zum Kochen bringen, ohne den Deckel zu schließen. Objektträger in den Halter stecken und in den kochenden *Target Retrieval*-Puffer stellen. Den Topf schließen und auf Maximaldruck bringen. Die Schnitte werden dann bei Maximaldruck für 2 Minuten erhitzt.
2. Zum Abkühlen den Schnellkochtopf nach dem Kochen in eine Spüle mit fließendem destilliertem Wasser stellen oder 20 Minuten auf dem Arbeitstisch stehen lassen (bis der Druck entwichen ist).
3. Die Objektträger aus dem Schnellkochtopf nehmen, schnell in fließendem destilliertem Wasser waschen und in TBS oder PBS überführen. Darauf achten, dass die Schnitte nicht trocknen, da dies die Antigenizität zerstören kann.
4. Gewebeschnitte mit destilliertem Wasser spülen.
5. Endogene Peroxidase blockieren (für Immunperoxidase-Methoden), und anschließend die Schnitte in destilliertes Wasser stellen.
6. Mit TBS oder PBS spülen.
7. Mit der gewählten immunhistochemischen Färbetechnik fortfahren.

**Wartung:**

Keine.

**Anmerkung zur Sicherheit:**

Die Heizplatte und der Schnellkochtopf werden sehr heiß. Den Topf daher nur an seinen Plastikgriffen anfassen. Der Schnellkochtopf kann bei Überdruck heißen Wasserdampf ausstoßen. Daher wird der Gebrauch von Gesichtsschutz und Isolierhandschuhen empfohlen.

**Literatur:**

- [1] Norton AJ, Jordan S, Yeomans P. Brief, high -temperature heat denaturation (pressure cooking): a simple and effective method of antigen retrieval for routinely processed tissues. *J Pathol* 1994; **173**:371-9.
- [2] Miller K, Auld J, Jessup E, Rhodes A, Ashton-Key M. Antigen unmasking in formalin-fixed routinely processed paraffin wax-embedded sections by pressure cooking: a comparison with microwave oven heating and traditional method s. *Advances in Anatomic Pathology* 1995, 2:60-4.
- [3] Miller RT, Estran C. Heat-induced epitope retrieval with a pressure cooker. Suggestions for optimal use. *Appl Immunohistochem* 1995; 3:190-3.