

Hitzebehandlung mit Wasserdampf

Einleitung:

Eine andere Methode der induzierten Antigendemaskierung, die bereits erfolgreich angewandt wurde, ist die Hitzebehandlung mit Wasserdampf [1, 2]. Hierbei handelt es sich um eine kostengünstige Alternative zur Mikrowellen-Methode. Kommerziell erhältliche Dampfgarer (*Steamer*), ursprünglich zur vitaminschonenden Garung von Reis, Gemüse, etc. gedacht, lassen sich auch zur Antigendemaskierung einsetzen. Vergleichstudien haben gezeigt, dass die beim Erhitzen mit Wasserdampf benötigte Zeit etwa doppelt so lang ist wie bei der Mikrowellen-Methode.

Benötigtes Material:

?? Dampfgarer (z.B. von Braun ??, Tefal ??)

?? *Target Retrieval*-Puffer

?? Inkubationskammer und Objektträgerhalter

?? Mikrowellengerät (optional)

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.

Wasserdampfmethode:

1. 1 l destilliertes Wasser (RT) in den Boden des Dampfgarers füllen
2. Saftauffangschale einlegen.
3. Die Dampfkammer auf die Saftauffangschale stellen. Nun eine der zwei folgenden Möglichkeiten (a, b) wählen:
 - 4a. 1. Einen Garbehälter (Reisschale) in die Dampfkammer stellen.
 2. Inkubationskammer (Dako-Code-Nr. S2030) mit 200 ml *Target Retrieval*-Puffer füllen und in den Garbehälter stellen.
 3. Deckel auf die Dampfkammer legen.
 4. Stoppuhr auf 75 Minuten stellen. Das Equilibrieren des Garbehältersinhalts/Puffers bei 95°C dauert etwa 45 Minuten.
 - 4b. 1. Inkubationskammer (Dako-Code-Nr. S2030) mit 200 ml *Target Retrieval*-Puffer füllen.
 2. Garbehälter (Reisschale) und Inkubationskammer im Mikrowellengerät bis kurz vor dem Kochen erhitzen (ca. 8 -15 Minuten).
 3. Unterdessen Deckel auf die Dampfkammer legen, und Stoppuhr auf 75 Minuten stellen. Das Aufheizen bis zur Dampfentwicklung dauert etwa 10-15 Minuten.
 4. Deckel entfernen, und Garbehälter (Reisschale) mit dem erwärmten Inhalt in die Dampfkammer stellen. Deckel auflegen. Temperatur etwa 5 Minuten lang equilibrieren lassen.
5. Deckel der Dampfkammer abnehmen. Objektträger in erhitzten *Target Retrieval*-Puffer stellen. Deckel auflegen.
6. 20-40 Minuten im Wasserdampf inkubieren.
7. Inkubationskammer mit Puffer und Objektträgern aus der Dampfkammer nehmen.
8. Objektträger für 20 Minuten auf RT abkühlen lassen.
9. Mit destilliertem Wasser spülen.

10. Endogene Peroxidase blockieren (für Immunperoxidase-Methoden), und Schnitte in destilliertes Wasser stellen.
11. Mit TBS oder PBS spülen.
12. Mit der gewählten immunhistochemischen Färbetechnik fortfahren.

Wartung:

Keine.

Anmerkung:

Wasserstand am Boden des Dampfgarers stets überprüfen, um ein Austrocknen während des Betriebs zu vermeiden.

Anmerkung zur Sicherheit:

Der Dampfgarer wird sehr heiß, daher nur an den Plastikgriffen anfassen. Die Dampfkammer setzt heißen Dampf frei. Der Gebrauch von Gesichtsschutz und Isolierhandschuhen wird empfohlen.

Literatur:

- [1] Battifora H, Alsabeh R, Jenkins KA, Grown A. Epitope retrieval (unmasking) in immunohistochemistry. *In press*.
- [2] Pasha T, Montone KT, Tomaszewski JE. Nuclear antigen retrieval utilizing steam heat (Abstract). *Lab Invest* 1995;**72**:167A.