

ImmPRESS™

Innowacyjny, polimerowy system detekcyjny II generacji

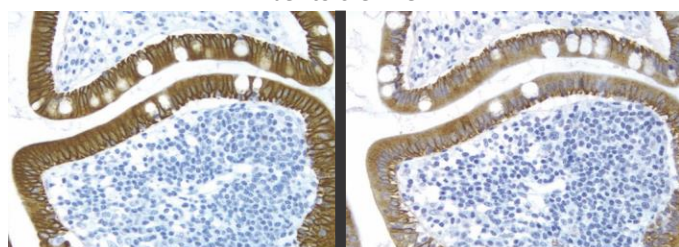
Technologia

Nieustannie rozwijane przez firmę Vector Laboratories i udoskonalane przez dziesięciolecia technologie chemii polimerów oraz koniugacji cząsteczek zaowocowały wprowadzeniem na rynek systemów barwienia ImmPRESS™. W istocie jest to przeciwciało wtórne z unikalnym mikropolimerowym łańcuchem składającym się z gęsto upakowanych, wysoce aktywnych cząsteczek peroksydazy. Odczynnik ImmPRESS™ nakrapla się na skrawek barwionej tkanki po uprzedniej inkubacji z przeciwciałem pierwotnym, a następnie dodaje się substrat dla peroksydazy w celu wytworzenia kompleksu barwnego. To szybka i prosta metoda barwienia immunohistochemicznego dająca niezrównaną czułość i ostry sygnał, precyzyjnie ukazujący lokalizację antygeny.

Wyższa czułość i mniejsze tło

To nowe podejście w konstrukcji systemów polimerowych pozwala uniknąć istotnych wad obecnych w systemach opartych na wielkocząsteczkowych szkieletach dekstranowych lub innych makromolekułach. Mikropolimerowy odczynnik ImmPRESS™ nie jest podatny na interferencje przestrzenne, dzięki czemu wykazuje wyjątkową fleksybilność, umożliwiającą błyskawiczną penetrację tkanki oraz dyfuzję do miejsca reakcji. Pozwala to osiągnąć niespotykaną czułość i minimalne tło. Poniżej znajdują się skrawki porównujące barwienia systemem ImmPRESS™ oraz alternatywnymi konkurencyjnymi systemami opartymi o makromolekularny rdzeń dekstranowy.

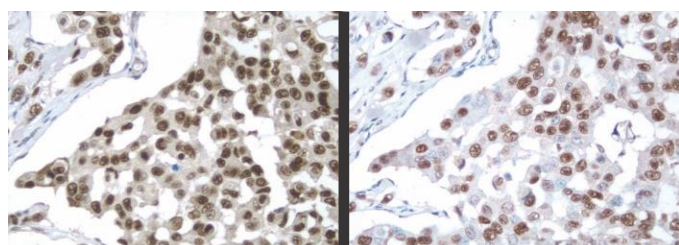
Jelito cienkie



Pierwotne przeciwciała anti-cytokeratyna 8/18, system ImmPRESS™ Anti-Mouse Ig, DAB, barwienie kontrastowe hematoksyliną.

To samo przeciwciała anti-cytokeratyna 8/18, peroksydazowy system detekcyjny oparty na makromolekułach dekstranu, DAB, barwienie kontrastowe hematoksyliną.

Rak Piersi



Pierwotne przeciwciała anti-p53-CM1, system ImmPRESS™ Anti-Mouse Ig, DAB, barwienie kontrastowe hematoksyliną.

To samo przeciwciała anti-p53-CM1, peroksydazowy system detekcyjny oparty na makromolekułach dekstranu, DAB, barwienie kontrastowe hematoksyliną.

Uprozczone podwójne znakowanie.

Jedną z szeregu zalet systemu ImmPRESS™ jest uproszczenie procedury podwójnego znakowania. Zmniejszenie liczby etapów inkubacji pozwala zaoszczędzić czas, co wydatnie skraca protokół barwienia w porównaniu z tradycyjnymi metodami. Łącząc system ImmPRESS™ z nowymi, dedykowanymi substratami peroksydazy serii ImmPACT™ osiągnięto jeszcze bardziej intensywne i specyficzne barwienia.

Kolejne strony zawierają protokół barwienia pojedynczego, wielokrotnego, tabelę kombinacji substratów pozwalających osiągnąć zamierzoną barwę oraz fotografie skrawków ilustrujące użycie systemu ImmPRESS™.

Zestaw ImmPRESS™ dostarczany jest w postaci dwóch gotowych do użycia buteleczek z precyzyjnym zakraplaczem; są to: właściwy polimerowy odczynnik ImmPRESS™ oraz rozcieńczona surowica blokująca. Żadne wstępne rozcieńczanie, ani mieszanie odczynników nie jest wymagane aby uzyskać optymalne wybarwienie badanych skrawków. Jednoetapowy system ImmPRESS™ pozwoli zaoszczędzić czas, bez utraty intensywności lub uszczerbku na jakości!

Dostępne wersje systemów ImmPRESS™:

ImmPRESS™ Anti-Rabbit Ig Kit	MP-7401	• 15 ml • 50 ml
ImmPRESS™ Anti-Mouse Ig Kit	MP-7402	• 15 ml • 50 ml
ImmPRESS™ Anti-Mouse Ig, Rat Adsorbed Kit	MP-7422	• 15 ml
ImmPRESS™ Anti-Rat Ig Kit	MP-7404	• 50 ml
ImmPRESS™ Anti-Rat Ig, Mouse Adsorbed Kit	MP-7444	• 15 ml
ImmPRESS™ Anti-Goat Ig Kit	MP-7405	• 50 ml
ImmPRESS™ Universal Antibody Kit	MP-7500	• 15 ml • 50 ml

Wybrane referencje:

Childs, G.V. et al (2005) Endocrinology 146:1780-1788
Karsten, S. L. et al (2006) Neuron 51(5):549-560
Harper, C. E. et al (2007) Carcinogenesis 28(9):1946-1953
Giordano, G. et al (2008) Pathol Res Pract 204(3):163-174
Wilanowski, T et al (2008) EMBO J 27(6):886-897

Barwienie podwójne skrawków parafinowych przy użyciu systemu ImmPRESS™

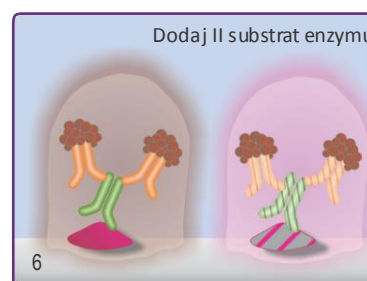
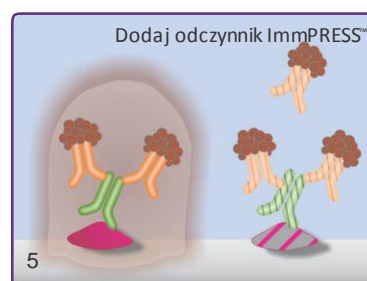
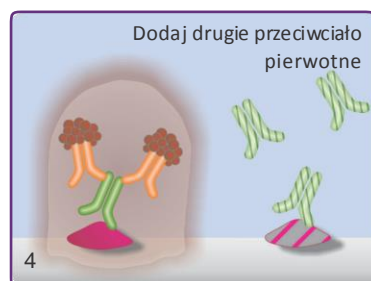
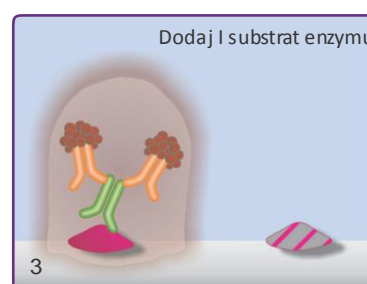
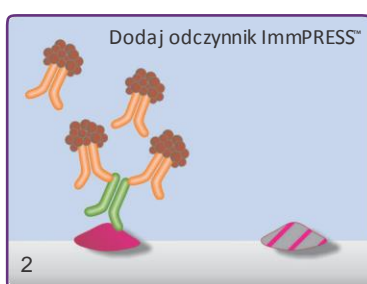
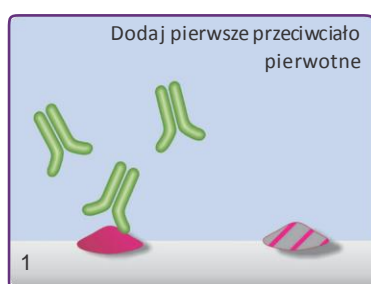
Barwienie pierwszego antygenu

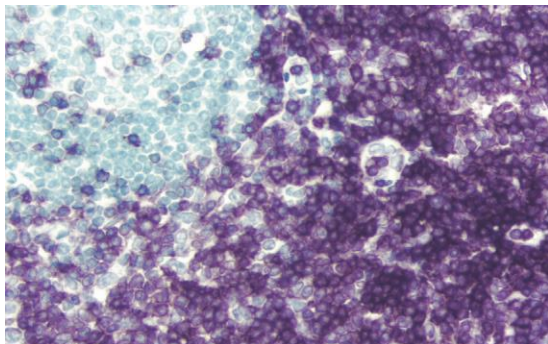
1. Odparafinować i uwodnić skrawki przeprowadzając przez ksyleny (lub inne odczynniki prześwietlające) i szereg alkoholowy.
2. Płukać w wodzie bieżącej przez 5 minut.*
3. W przypadku konieczności zahamowania aktywności endogennej peroksydazy, skrawki należy inkubować przez 30 minut w 0,3% roztworze nadtlenku wodoru (H_2O_2) w wodzie lub metanolu. Jeżeli endogenna aktywność peroksydazowa nie występuje ten etap procedury można pominąć.
4. Płukać dwukrotnie w buforze PBS (bufor fosforanowy o pH 7,5) przez 3 minuty.
5. Inkubować skrawki w surowicy blokującej znajdującej się w zestawie (gotowa do użycia 2,5% normalna surowica końska).
6. Inkubować skrawki z pierwotnymi przeciwciałami zawieszonymi w odpowiednim rozcieńczalniku.
7. Płukać preparaty w buforze przez 5 minut.
8. Inkubować skrawki przez 30 minut w odpowiednim, specyficznym-gatunkowo odczynniku ImmPRESS™ stosownym do użytego przeciwciała pierwotnego.
9. Płukać preparaty przez 5 minut w buforze.
10. Inkubować skrawki w roztworze substratu peroksydazy przez czas niezbędny do osiągnięcia odpowiedniego poziomu intensywności zabarwienia.
11. Płukać preparaty przez 5 minut w buforze.

Barwienie drugiego antygenu

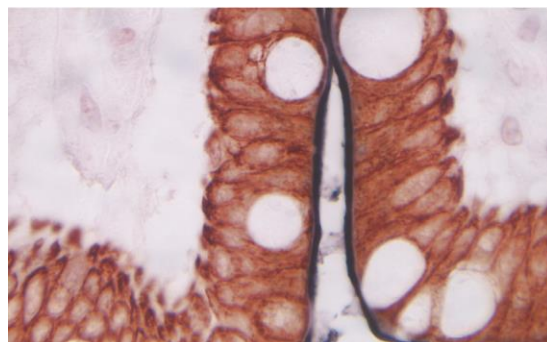
12. Inkubować skrawki w surowicy blokującej znajdującej się w zestawie (gotowa do użycia 2,5% normalna surowica końska).
13. Inkubować skrawki z pierwotnymi przeciwciałami zawieszonymi w odpowiednim rozcieńczalniku.
14. Płukać preparaty w buforze przez 5 minut.
15. Inkubować skrawki przez 30 minut w odpowiednim, specyficznym-gatunkowo odczynniku ImmPRESS™ stosownym do użytego przeciwciała pierwotnego.
16. Płukać preparaty przynajmniej przez 5 minut w buforze.
17. Inkubować skrawki w roztworze drugiego substratu peroksydazy przez czas niezbędny do osiągnięcia odpowiedniego poziomu intensywności zabarwienia. Lista stosownych substratów kontrastowych znajduje się na str. 4
18. Płukać preparaty w buforze przez 5 minut.
19. Wykonać barwienie kontrastujące, prześwietlić i zamknąć preparat.

* Jeżeli istnieje konieczność odstąpienia antygenu, procedurę przeprowadzić po 2 etapie, używając odpowiedniego buforu: kwaśny nr kat. H-3300 (citrate based) lub zasadowy H-3301 (high pH).

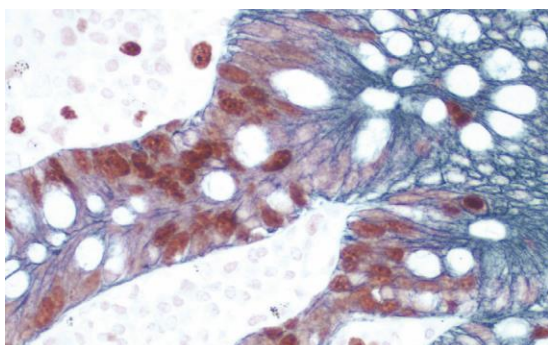




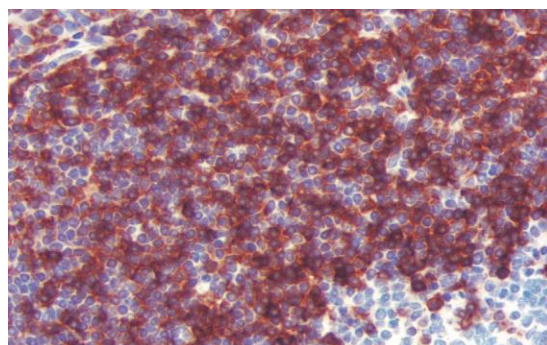
Migdałki - barwienie pojedyncze
 • CD3 (szczurze, monoklonalne), system ImmPRESS™ Anti-Rat Ig, substrat ImmPACT™ VIP HRP (purple).
 • barwienie kontrastowe Vector® Methyl Green (zielony).



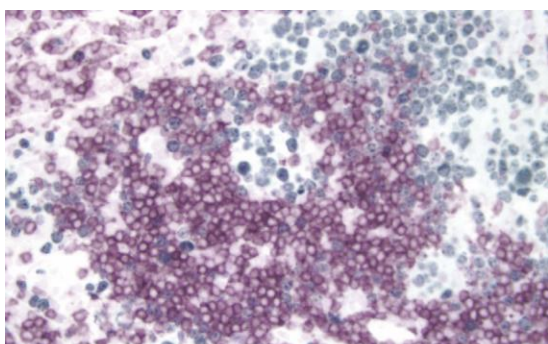
Jelito cienkie - barwienie podwójne
 • CD10 (mysie, monoklonalne), system ImmPRESS™ Anti-Mouse Ig, substrat DAB+Ni HRP (szary/czarny).
 • Cytokeratyna 20 (mysie, monoklonalne), system ImmPRESS™ Anti-Mouse Ig, substrat Vector® NovaRED™ HRP (czerwony).



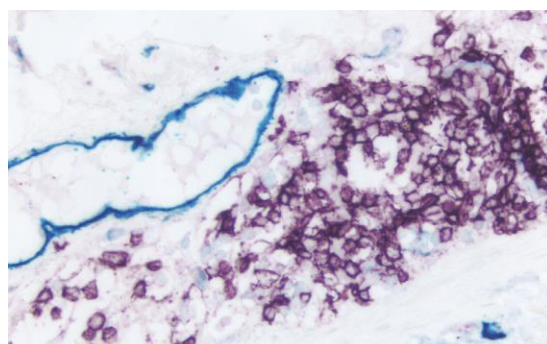
Jelito cienkie - barwienie podwójne
 • Ki67 (królicze, poliklonalne), system ImmPRESS™ Universal, substrat Vector® NovaRED™ HRP (czerwony).
 • Cytokeratyn 8/18 (mysie, monoklonalne), system ImmPRESS™ Universal, substrat Vector® SG HRP (niebieski/szary).



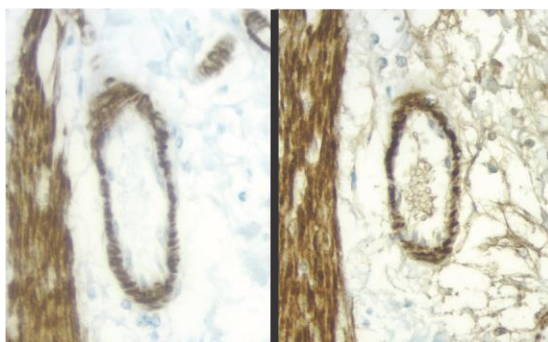
Migdałki - barwienie pojedyncze
 • CD45 (szczurze, monoklonalne), system ImmPRESS™ Anti-Rat Ig, substrat ImmPACT™ NovaRED™ HRP (czerwony).
 • barwienie kontrastowe Hematoxylin QS (niebieski).



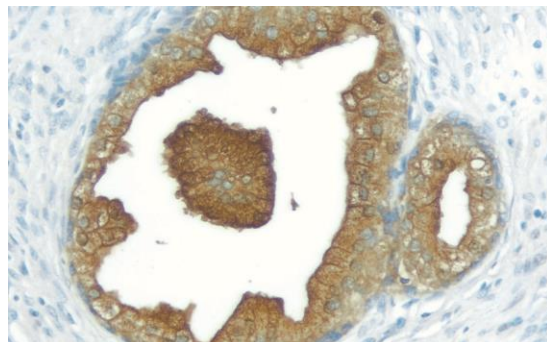
Migdałki - barwienie podwójne
 • CD3 (mysie, monoklonalne), system ImmPRESS™ Anti-Mouse Ig, substrat Vector® VIP HRP (szkarłatny).
 • Ki67 (mysie, monoklonalne), system ImmPRESS™ Anti-Mouse Ig, substrat Vector® SG HRP (niebieski/szary).



Okrężnica - barwienie podwójne
 • Antygen M2A (mysie, monoklonalne), system VECTASTAIN® Universal ABC-AP Kit, substrat Vector® Blue AP (niebieski).
 • CD20 (mysie, monoklonalne), system ImmPRESS™ Universal, substrat Vector® VIP HRP (purple).



Jelito szczurze - barwienie pojedyncze
 • Po lewej: Desmina (mysie, monoklonalne), ImmPRESS™ Anti-Mouse Ig (rat adsorbed), substrat DAB (brązowy), barwienie kontrastowe Hematoxylin QS (niebieski).
 • Po prawej: Desmina (mysie, monoklonalne), system ImmPRESS™ Anti-Mouse Ig (non-rat adsorbed), substrat DAB (brązowy), barwienie kontrastowe Hematoxylin QS (niebieski).



Prostata - barwienie pojedyncze
 • Swoisty antygen gruczołu krokowego (PSA) (goat polyclonal), system ImmPRESS™ Anti-Goat Ig, substrat ImmPACT™ DAB (brązowy).
 • barwienie kontrastowe Hematoxylin QS (niebieski).





Kombinacje substratów peroksydazy i alkalicznej fosfatazy w barwieniach podwójnych

Zestawy ImmPRESS™ mogą być stosowane samodzielnie, bądź w skojarzeniu z systemami opartymi na alkalicznej fosfatazie w barwieniach podwójnych. Poniższa tabela daje wyobrażenie które substraty można stosować równolegle, aby osiągnąć najlepszy efekt w barwieniach wielokrotnych. Kolejność barwienia i względna intensywność koloru precypitatu znacząco wpływa na jakość i wzór antygeny w wybarwianym skrawku.

drużni substrat pierwszy substrat	Vector®				ImmPACT™ VIP, Vector® VIP	ImmPACT™ DAB, Vector® DAB	Vector® DAB-Ni	ImmPACT™ NovaRED™, Vector® NovaRED™	ImmPACT™ SG, Vector® SG	ImmPACT™ AEC, Vector® AEC	Vector® TMB
	Red	Blue	Black	BCIP/NBT							
Vector® Red, SK-5100		—	—	—	—	+	+	—	+	—	—
Vector® Blue, SK-5300	+		—	—	+	+	+	+	+	+	—
Vector® Black, SK-5200	+	+		+	+	—	—	—	—	+	—
Vector® BCIP/NBT, SK-5400	+	—	—		+	+	+	+	+	+	—
ImmPACT™ VIP, SK-4605 Vector® VIP, SK-4600	—	+	—	—		+	+	—	+	—	—
ImmPACT™ DAB, SK-4105 Vector® DAB, SK-4100	+	+	—	+	+		—	—	+	+	+
Vector® DAB-Ni, SK-4100	+	—	—	—	+	+		+	—	+	+
ImmPACT™ NovaRED™, SK-4805 Vector® NovaRED™, SK-4800	—	+	—	+	—	+	+		+	—	+
ImmPACT™ SG, SK-4705 Vector® SG, SK-4700	+	—	—	—	+	+	—	—		+	—
ImmPACT™ AEC, SK-4205 Vector® AEC, SK-4200	—	—	—	—	—	+	—	—	+		—
Vector® TMB*, SK-4400		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Klucz:
substraty dla alkalicznej fosfatazy substraty dla peroksydazy + substraty zapewniające dobry kontrast — substraty niekompatybilne

*TMB nie wykazuje wystarczającej reaktywności w barwieniach podwójnych

Substraty Peroksydazy

	nr kat.	op.
ImmPACT™ DAB (brown)	SK-4105	• 120 ml
ImmPACT™ AEC (red)	SK-4205	• 120 ml
ImmPACT™ VIP (purple)	SK-4605	• 120 ml
ImmPACT™ SG (blue/gray)	SK-4705	• 120 ml
ImmPACT™ NovaRED™ (red)	SK-4805	• 120 ml
Vector® DAB/Ni (brown or gray/black)	SK-4100	• 1 Kit
Vector® AEC (red)	SK-4200	• 1 Kit
Vector® TMB (blue)	SK-4400	• 1 Kit
Vector® VIP (purple)	SK-4600	• 1 Kit
Vector® SG (blue/gray)	SK-4700	• 1 Kit
Vector® NovaRED™ (red)	SK-4800	• 1 Kit

Substraty Alkalicznej Fosfatazy

	nr kat.	op.
Vector® Red (red)	SK-5100	• 1 Kit
Vector® Blue (blue)	SK-5200	• 1 Kit
Vector® Black (brown/black)	SK-5300	• 1 Kit
Vector® BCIP/NBT (blue/violet)	SK-5400	• 1 Kit

Kontrole

Rabbit IgG	I-1000	• 5 mg
Mouse IgG	I-2000	• 1 mg
Rat IgG	I-4000	• 1 mg
Goat IgG	I-5000	• 1 mg

Produkty towarzyszące

	nr kat.	op.
Antigen Unmasking Solution (100x) Citrate-based High pH	H-3300	• 250 ml
Bovine Serum Albumin (BSA)	H-3301	• 250 ml
2.5% Normal Horse Serum	SP-5050	• 500 mg
Normal Goat Serum	S-2012	• 50 ml
ImmEdge™ Hydrophobic Barrier Pen	S-1000	• 20 ml
ImmPrint™ Histology Pen	H-4000	• 2 pens
VECTABOND™ Reagent	H-6100	• 5 pens
VectaMount™ Permanent Mounting Medium	SP-1800	• 7 ml
VectaMount™ AQAqueous Mounting Medium	H-5000	• 60 ml
Vector® Hematoxylin Counterstain	H-5501	• 60 ml
Vector® Hematoxylin QS Counterstain	H-3401	• 500 ml
Vector® Methyl Green Counterstain	H-3404	• 100 ml
Vector® Nuclear Fast Red Counterstain	H-3402	• 500 ml
	H-3403	• 500 ml

