

ИНСТРУКЦИЯ **по применению медицинского изделия**

«Вспомогательные реагенты in vitro
для проведения иммуногистохимических исследований»,
производства «Лэб Вижн Корпорэйшн», подразделение «Термо Фишер Сайентифик»
(Lab Vision Corporation, subsidiary of Thermo Fisher Scientific), США.

НАЗНАЧЕНИЕ

Вспомогательные реагенты in vitro для проведения иммуногистохимических исследований, производства «Лэб Вижн Корпорэйшн», подразделение «Термо Фишер Сайентифик» (Lab Vision Corporation, subsidiary of Thermo Fisher Scientific), США, предназначены для проведения качественных лабораторных иммуногистохимических исследований биологического материала в условиях сохранения морфологии клеток, результаты которых оцениваются на световом микроскопе. Вспомогательные реагенты используются для подготовки и проведения процесса иммуногистохимической диагностики, а именно, подготовки образцов, обработки микропрепаратов, подготовки антител, проведения контрастного окрашивания и заключения микропрепарата под покровное стекло.

Иммуногистохимическая диагностика применяется в онкоморфологии, гематологии, при диагностике аутоиммунных заболеваний человека, при инфекционной патологии.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Вспомогательные реагенты in vitro для проведения иммуногистохимических исследований позволяют осуществлять обработку и последующее окрашивание микропрепаратов.

Конкретное антитело обнаруживается универсальным составом вторичных антител, связанных с полимером, меченым энзимом, который распознает мышиные и кроличьи антитела. Затем полимерный комплекс визуализируется с помощью соответствующего субстрата/хромогена.

СОСТАВ

Вспомогательные реагенты in vitro для проведения иммуногистохимических исследований представлены 10 вариантами исполнения, каждый из которых используется на разных этапах проведения общей процедуры иммуногистохимического исследования.

Вспомогательные реагенты in vitro для проведения иммуногистохимических исследований, варианты исполнения:

1. Раствор для разведения антител OP Quanto, 1 x 125 мл (Thermo Scientific Antibody Diluent OP Quanto, 1 x 125 ml).

2. Реагенты для контрастного окрашивания UltraVision Quanto Counterstain Kit (Thermo Scientific UltraVision Quanto Counterstain Kit), в составе: Гематоксилин Майера Quanto, 1 x 125 мл (Modified Mayer's Hematoxylin Quanto, 1 x 125 ml); Подсинивающий раствор Quanto, 1 x 125 мл (Bluing Reagent Quanto, 1 x 125 ml); Заливочная среда Quanto, 1 x 60 мл (Mounting Medium Quanto, 1 x 60 ml).

3. Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий L, 1 x 100 мл, 10 x 100 мл (Thermo Scientific Dewax and HIER Buffer L, 1 x 100 ml, 10 x 100 ml).

4. Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий M, 1 x 100 мл, 10 x 100 мл (Thermo Scientific Dewax and HIER Buffer M, 1 x 100 ml, 10 x 100 ml).

5. Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий H, 1 x 100 мл, 10 x 100 мл (Thermo Scientific Dewax and HIER Buffer H, 1 x 100 ml, 10 x 100 ml).

6. Блок пероксидазы UltraVision, 1 x 15 мл, 1 x 60 мл, 1 x 125 мл (Thermo Scientific UltraVision Hydrogen Peroxide Block, 1 x 15 ml, 1 x 60 ml, 1 x 125 ml).

7. Протеиновый блок UltraVision, 1 x 15 мл, 1 x 60 мл, 1 x 125 мл (Thermo Scientific UltraVision Protein Block, 1 x 15 ml, 1 x 60 ml, 1 x 125 ml).

8. Буферный раствор для высокотемпературной обработки эпителий H, 9 x 15 мл (Thermo Scientific HIER Buffer H, 9 x 15 ml).

9. Буферный раствор для высокотемпературной обработки эпителий L, 9 x 15 мл (Thermo Scientific HIER Buffer L, 9 x 15 ml).

10. Буферный раствор для высокотемпературной обработки эпителий M, 9 x 15 мл (Thermo Scientific HIER Buffer M, 9 x 15 ml).

ОПИСАНИЕ

1. Вариант исполнения - Раствор для разведения антител OP Quanto, 1 x 125 мл (Thermo Scientific Antibody Diluent OP Quanto, 1 x 125 ml).

Вспомогательный реагент предназначен для разведения концентрированных антител до титра, рекомендованного в инструкции к антителу, либо до выбранного конечным пользователем, для обеспечения оптимального окрашивания и минимизации неспецифического фона. Данный раствор также можно использовать в качестве отрицательного контроля в ходе иммуногистохимической реакции.

Фасовка: 1 x 125 мл. Вид: готовый к применению.

2. Вариант исполнения - Реагенты для контрастного окрашивания UltraVision Quanto Counterstain Kit (Thermo Scientific UltraVision Quanto Counterstain Kit), в составе: Гематоксилин Майера Quanto, 1 x 125 мл (Modified Mayer's Hematoxylin Quanto, 1 x 125 ml); Подсинивающий раствор Quanto, 1 x 125 мл (Bluing Reagent Quanto, 1 x 125 ml); Заливочная среда Quanto, 1 x 60 мл (Mounting Medium Quanto, 1 x 60 ml).

Реагенты для контрастного окрашивания UltraVision Quanto Counterstain Kit предназначены для проведения контрастного окрашивания и заключения микропрепарата под покровное стекло.

Состав:

- Гематоксилин Майера Quanto, 1 x 125 мл (Modified Mayer's Hematoxylin Quanto, 1 x 125 ml). Гематоксилин Майера Quanto представляет собой водную контрастирующую краску, которая обеспечивает отличную контрастность большинства хромогенов. Уровень pH смещен в кислую сторону шкалы pH, чтобы обеспечить надлежащее сцепление тканей и протравного красителя. Окраска в этом диапазоне pH соответствует оттенкам фиолетового цвета. Фиолетовый оттенок меняется на синий на последующих этапах. Фасовка: 1 x 125 мл. Вид: готовый к применению.

- Подсинивающий раствор Quanto, 1 x 125 мл (Bluing Reagent Quanto, 1 x 125 ml). Подсинивающий раствор Quanto представляет собой реагент на легкой водной основе, который поддерживает морфологическую целостность ткани. При его уровне pH оттенок Гематоксилина Майера Quanto меняется с фиолетового на более насыщенный синий. Фасовка: 1 x 125 мл. Вид: готовый к применению.

- Заливочная среда Quanto, 1 x 60 мл (Mounting Medium Quanto, 1 x 60 ml). Заливочная среда Quanto покрывает образец и останавливает процесс окисления, который считается причиной ухудшения окрашенной ткани со временем, и позволяет архивировать микропрепараты. Заливочная среда Quanto производится на основе толуола. Фасовка: 1 x 60 мл. Вид: готовый к применению.

3. Вариант исполнения - Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий L, 1 x 100 мл, 10 x 100 мл (Thermo Scientific Dewax and HIER Buffer L, 1 x 100 ml, 10 x 100 ml).

Вспомогательный реагент предназначен для одновременной депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий срезов тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE). Фиксация в формалине негативно влияет на иммунореактивность антигенов/эпителий. Поскольку ферментативная обработка меняет это состояние только для некоторых антигенов/эпителий, высокотемпературная обработка эпителий была разработана как специальный метод предварительной обработки для улучшения иммунореактивности множества антигенов/эпителий с антителами, предназначенных для их выявления в срезах тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином. Буферный раствор обеспечивает оптимальное удаление воска, восстановление антигенов и регидратацию интересующего антигена/эпителий; раствор выбирается на основании информации, указанной в листке данных первичного антитела.

Фасовка: 1 x 100 мл или 10 x 100 мл. Вид: концентрат 15X.

4. Вариант исполнения - Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий M, 1 x 100 мл, 10 x 100 мл (Thermo Scientific Dewax and HIER Buffer M, 1 x 100 ml, 10 x 100 ml).

Вспомогательный реагент предназначен для одновременной депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий срезов тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE). Фиксация в формалине негативно влияет на иммунореактивность антигенов/эпителий. Поскольку ферментативная обработка меняет это состояние только для некоторых антигенов/эпителий, высокотемпературная обработка эпителий была разработана как специальный метод предварительной обработки для улучшения иммунореактивности множества антигенов/эпителий с антителами, предназначен-

ных для их выявления в срезах тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином. Буферный раствор обеспечивает оптимальное удаление воска, восстановление антигенов и регидратацию интересующего антигена/эпитопа; раствор выбирается на основании информации, указанной в листке данных первичного антитела.

Фасовка: 1 x 100 мл или 10 x 100 мл. Вид: концентрат 15X.

5. Вариант исполнения - Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпитопов H, 1 x 100 мл, 10 x 100 мл (Thermo Scientific Dewax and HIER Buffer H, 1 x 100 ml, 10 x 100 ml).

Вспомогательный реагент предназначен для одновременной депарафинизации и высокотемпературной обработки эпитопов срезов тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE). Фиксация в формалине негативно влияет на иммунореактивность антигенов/эпитопов. Поскольку ферментативная обработка меняет это состояние только для некоторых антигенов/эпитопов, высокотемпературная обработка эпитопов была разработана как специальный метод предварительной обработки для улучшения иммунореактивности множества антигенов/эпитопов с антителами, предназначенных для их выявления в срезах тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином. Буферный раствор обеспечивает оптимальное удаление воска, восстановление антигенов и регидратацию интересующего антигена/эпитопа; раствор выбирается на основании информации, указанной в листке данных первичного антитела.

Фасовка: 1 x 100 мл или 10 x 100 мл. Вид: концентрат 15X.

6. Вариант исполнения - Блок пероксидазы UltraVision, 1 x 15 мл, 1 x 60 мл, 1 x 125 мл (Thermo Scientific UltraVision Hydrogen Peroxide Block, 1 x 15 ml, 1 x 60 ml, 1 x 125 ml).

Вспомогательный реагент предназначен для блокирования активности эндогенной пероксидазы, которая может вызывать неспецифическое фоновое окрашивание при использовании маркера пероксидазы хрена. Данный реагент предназначен для использования совместно с системами детекции.

Фасовка: 1 x 15 мл, 1 x 60 мл или 1 x 125 мл. Вид: готовый к применению.

7. Вариант исполнения - Протеиновый блок UltraVision, 1 x 15 мл, 1 x 60 мл, 1 x 125 мл (Thermo Scientific UltraVision Protein Block, 1 x 15 ml, 1 x 60 ml, 1 x 125 ml).

Вспомогательный реагент используется до применения первичного антитела и предназначен для сокращения неспецифического фонового окрашивания.

Фасовка: 1 x 15 мл, 1 x 60 мл или 1 x 125 мл. Вид: готовый к применению.

8. Вариант исполнения - Буферный раствор для высокотемпературной обработки эпитопов H, 9 x 15 мл (Thermo Scientific HIER Buffer H, 9 x 15 ml).

Вспомогательный реагент предназначен для высокотемпературной обработки эпитопов срезов тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE). Фиксация в формалине негативно влияет на иммунореактивность антигенов/эпитопов. Высокотемпературная обработка эпитопов была разработана как специальный метод предварительной обработки для улучшения иммунореактивности множества антиге-

нов/эпитопов с антителами, предназначенных для их выявления в срезах тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином. Буферный раствор обеспечивает оптимальное восстановление антигенов и регидратацию интересующего антигена/эпитопа; раствор выбирается на основании информации, указанной в листке данных первичного антитела.

Фасовка: 9 x 15 мл. Вид: концентрат 100X.

9. Вариант исполнения - Буферный раствор для высокотемпературной обработки эпитопов L, 135 мл (Thermo Scientific HIER Buffer L, 135 ml).

Вспомогательный реагент предназначен для высокотемпературной обработки эпитопов срезов тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE). Фиксация в формалине негативно влияет на иммунореактивность антигенов/эпитопов. Высокотемпературная обработка эпитопов была разработана как специальный метод предварительной обработки для улучшения иммунореактивности множества антигенов/эпитопов с антителами, предназначенных для их выявления в срезах тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином. Буферный раствор обеспечивает оптимальное восстановление антигенов и регидратацию интересующего антигена/эпитопа; раствор выбирается на основании информации, указанной в листке данных первичного антитела.

Фасовка: 9 x 15 мл. Вид: концентрат 100X.

10. Вариант исполнения - Буферный раствор для высокотемпературной обработки эпитопов M, 135 мл (Thermo Scientific HIER Buffer M, 135 ml).

Вспомогательный реагент предназначен для высокотемпературной обработки эпитопов срезов тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином (FFPE). Фиксация в формалине негативно влияет на иммунореактивность антигенов/эпитопов. Высокотемпературная обработка эпитопов была разработана как специальный метод предварительной обработки для улучшения иммунореактивности множества антигенов/эпитопов с антителами, предназначенных для их выявления в срезах тканей, фиксированных в формалине и залитых парафином. Буферный раствор обеспечивает оптимальное восстановление антигенов и регидратацию интересующего антигена/эпитопа; раствор выбирается на основании информации, указанной в листке данных первичного антитела.

Фасовка: 9 x 15 мл. Вид: концентрат 100X.

ОСНОВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕАГЕНТОВ

№ п/п	Название реагента, фасовка	Состав (вес.%)	Физическое состояние	Внешний вид	Запах	pH
1.	Раствор для разведения антител OP Quanto, 1 x 125 мл	Вода 85-90% Трис- (гидроксиметил) – аминотан 5-10% Tween 20 < 1% Альбумины, сыворотка крови < 1% Азид натрия < 1%	Жидкость	Светлый бесцветный	Без запаха	Нет данных
2.	Реагенты для контрастного окрашивания UltraVision Quanto Counterstain Kit, в составе:					

	Гематоксилин Майера Quanto, 1 x 125 мл	Алюминиево-аммониевые квасцы 7-10% Этиленгликоль 1-2% Гематоксилин < 1% Лимонная кислота < 1% Иодат натрия < 0,1% Вода 88 -92%	Жидкость	Лиловый	Слабый сладкий	Нет данных
	Подсинивающий раствор Quanto, 1 x 125 мл	Гидрокарбонат натрия < 1% Вода ≥ 98% Сульфат магния 1% 1-Тетрадеканаминиум, N,N,N-триметил-, бромид < 0,1%	Жидкость	Белый	Нет данных	Нет данных
	Заливочная среда Quanto, 1 x 60 мл	Толуол 64-66% Акриловая синтетическая смола 34 – 36%	Жидкость	Светло-желтый	Сладкий	Нет данных
3.	Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий L, 1 x 100 мл, 10 x 100 мл	Вода 60-65% Полиэтиленгликоль 20-25% Патентованный компонент 5-7% 2-Метил-3-изотиазолон < 1% Натрия цитрат дигидрат 2-4% Лимонная кислота моногидрат 2-3%	Жидкость	Светло-оранжевый	Слабый сладкий	5,8 - 6,3
4.	Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий M, 1 x 100 мл, 10 x 100 мл	Вода 60-65% Полиэтиленгликоль 20-22% Triton-X100 5-7% Патентованный компонент 5-7% Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) < 1% Тетранатрий ЭДТА < 1% HEPES натриевая соль < 1% 2-Метил-3-изотиазолон < 1%	Жидкость	Светло-лиловый	Слабый сладкий	7,5 - 8,0
5.	Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий H, 1 x 100 мл, 10 x 100 мл	Вода 60-65% Полиэтиленгликоль 20-22% Triton-X100 5-7% Патентованный компонент 5-7% Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) < 1% Тетранатрий ЭДТА < 1% Трис-(гидроксиметил)-аминметан 1-2% Поли(окси-1,2-этандин), .альфа.-[4-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенил]-.омега.-гидрокси- < 1% 2-Метил-3-изотиазолон < 1%	Жидкость	Светло-синий	Слабый сладкий	8,6 - 9,0
6.	Блок пероксидазы UltraVision, 1 x 15 мл, 1 x 60 мл, 1 x 125 мл	Пероксид водорода < 1% Вода 95-99% Азид натрия < 1% Трис-(гидроксиметил)-аминметан < 1% Соляная кислота < 1% Хлорид калия < 1% Хлорид натрия < 1%	Жидкость	Светлый бесцветный	Без запаха	Нет данных
7.	Протеиновый блок UltraVision, 1 x 15 мл, 1 x 60 мл, 1 x 125 мл	Вода 95-99% Альбумины, сыворотка крови 1% Желатин < 1% Triton-X100 < 1% Хлорид натрия < 1%	Жидкость	Светлый бесцветный	Без запаха	Нет данных

		Двухосновный фосфат натрия 0,014% Дигидрофосфат калия < 1% Хлорид калия 0,002%				
8.	Буферный раствор для вы-сокотемператур-ной обработки эпителий Н, 9 x 15 мл	Вода 80-85% Triton-X100 3-5% Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) < 1% Тетранатрий ЭДТА < 1% Трис-(гидроксиметил)- ами-нометан 10-12% 2-Метил-3-изотиазолон < 1%	Жидкость	Светло-синий	Без запаха	8,6 - 9,0
9.	Буферный раствор для вы-сокотемператур-ной обработки эпителий L, 9 x 15 мл	Вода 85-90% 2-Метил-3-изотиазолон < 1% Натрия цитрат дигидрат 25-30% Лимонная кислота моногидрат < 1%	Жидкость	Светло-оранжевый	Без запаха	5,8 - 6,3
10.	Буферный раствор для вы-сокотемператур-ной обработки эпителий M, 9 x 15 мл	Вода 95-99% Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) < 1% Тетранатрий ЭДТА < 1% HEPES натриевая соль < 1% 2-Метил-3-изотиазолон < 1%	Жидкость	Светло-лиловый	Без запаха	7,5 - 8,0

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ

Наборы реагентов не являются стерильными.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Беременность, заболевания дыхательных путей, аллергия.

ПОБОЧНЫЕ ДЕЙСТВИЯ

В случае неправильного использования и несоблюдения инструкции по применению возможно возникновение аллергических реакций, сонливости и головокружения, раздражения кожи, слизистых оболочек глаз и дыхательных путей.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

См. паспорт безопасности компонентов набора (MSDS).

При работе с компонентами набора следует использовать защитные маски, плотно прилегающие защитные очки, защитную одежду и защитные перчатки с целью предотвращения попадания реагентов в дыхательные пути, глаза и на кожу.

ОБРАЗЦЫ

Фиксированные в формалине и залитые парафином срезы тканей.

ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Первичные антитела;
- система детекции для иммуногистохимических исследований,
- Трис-буферный раствор и Tween 20 (или другой буферный раствор для промывки);
- вода дистиллированная;
- стакан мерный;

- рН-метр;
- баня водяная;
- влажная камера для инкубации (пластиковый контейнер с крышкой + фильтровальная бумага, смоченная дистиллированной водой);
- предметные стекла;
- покровные стекла;
- колба 1 л;
- микропипетки со сменными носиками и переменным объемом;
- защитные перчатки;
- защитные очки;
- защитная маска;
- защитная одежда.

ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ И РЕАГЕНТОВ

В соответствии с общим протоколом для ИГХ.

I. Подготовка образцов:

1. Фиксация. Инкубируйте образец ткани в 4% параформальдегиде или 10% буферном формалине в течение от 6 до 12 часов.
2. Дегидратация. Дегидратируйте в спиртовом градиенте 80%, 95%, 100%, 100%; затем очистите в ксилоле.
3. Заливка. Поместите зафиксированную ткань в держатель и полностью погрузите держатель в жидкий парафин. Уберите в холодное место до затвердения.
4. Изготовление среза / заключение в гистологическую среду.
 - а) Сделайте 5 мкм срез ткани, залитой в парафин, и поместите ткань в горячую водяную баню (~ 40°C).
 - б) Положите на заряженное предметное стекло для термической обработки при 60-70°C в течение 2 часов.
 - в) Охладите до комнатной температуры в течение 2-3 часов и промаркируйте микропрепарат согласно общепринятой лабораторной процедуре.

II. Подготовка антител:

Концентрированные антитела должны быть разведены перед применением. Для разведения используйте Раствор для разведения антител OP Quanto. Антитела разводятся до титра, рекомендованного (для каждого конкретного антитела) для получения оптимального окрашивания. В качестве реагента отрицательного раствора используйте фосфатно-солевой буфер вместо первичных антител.

III. Подготовка буферных растворов:

1. Подготовка буферного раствора для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий (L, M или H). pH конечного раствора должен быть: для буфера L $6,2 \pm 0,2$; для буфера M $7,8 \pm 0,2$; для буфера H $8,8 \pm 0,2$.
 - а) Вылейте один флакон буферного раствора для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителий (L, M или H) (100 мл) в резервуар модуля PT Module.
 - б) Добавьте 1400 мл дистиллированной воды, чтобы получить 1500 мл (1,5 литра) готового раствора (разведение 1:15).
 - в) Измерьте и запишите значение pH с помощью откалиброванного pH-метра согласно его инструкции (рекомендуется).
2. Подготовка буферного раствора для высокотемпературной обработки эпителий (L, M или H). pH конечного раствора должен быть: для буфера L $6,2 \pm 0,2$; для буфера M $8,0 \pm 0,2$; для буфера H $9,0 \pm 0,2$.

- а) Вылейте один флакон буферного раствора для высокотемпературной обработки эпитопов (L, M или H) (15 мл) в резервуар модуля PT Module.
- б) Добавьте 1500 мл дистиллированной воды (разведение 1:100).
- в) Измерьте и запишите значение pH с помощью откалиброванного pH-метра согласно его инструкции (рекомендуется).

ПРИМЕЧАНИЕ: в случае использования других устройств для проведения процедуры (например, ручной метод) необходимо адаптировать процедуру, учитывая индивидуальные особенности работы в лаборатории и контролировать параметры процедуры (разведение раствора X 15, X 100, pH раствора) самостоятельно.

ПРОЦЕДУРА

Все этапы выполняются при комнатной температуре.

- I. Депарафинизация и высокотемпературная обработка эпитопов. В случае, если рекомендована высокотемпературная обработка эпитопов:

Или

1. Для демаскировки антигенов прогрейте модуль PT Module с приготовленным буферным раствором для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпитопов (L, M или H) в рабочем разведении до температуры 85°C и погрузите стёкла на штативе устройства для автоматического окрашивания Autostainer в резервуар модуля PT Module.
2. Запустите программу модуля PT Module; она нагреет буферный раствор и стёкла до 98°C и будет удерживать эту температуру в течение 20 минут.
3. Охладите стёкла в модуле PT Module до 85°C. Затем охладите стёкла до комнатной температуры в Трис-буферном растворе и Tween 20 в течение как минимум 5 минут.
4. Убедитесь, что стёкла смочены буферным раствором вплоть до момента загрузки в устройство для автоматического окрашивания Autostainer.

Или

1. Депарафинизируйте и регидратируйте срезы согласно стандартной лабораторной процедуре.
2. Для демаскировки антигенов прогрейте модуль PT Module с приготовленным буферным раствором для высокотемпературной обработки эпитопов (L, M или H) в рабочем разведении до температуры 85°C и погрузите стёкла на штативе устройства для автоматического окрашивания Autostainer в резервуар модуля PT Module.
3. Запустите программу модуля PT Module; она нагреет буферный раствор и стёкла до 98°C и будет удерживать эту температуру в течение 20 минут.
4. Охладите стёкла в модуле PT Module до 85°C. Затем охладите стёкла до комнатной температуры в Трис-буферном растворе и Tween 20 в течение как минимум 5 минут.
5. Убедитесь, что стёкла смочены буферным раствором вплоть до момента загрузки в устройство для автоматического окрашивания Autostainer.

ПРИМЕЧАНИЕ: в случае использования других устройств для проведения процедуры депарафинизации и демаскировки (например, ручной метод) необходимо адаптировать процедуру, учитывая индивидуальные особенности работы в лаборатории и контролировать параметры процедуры (температура нагрева, время инкубации) самостоятельно.

- II. Окрашивание предварительно обработанных микропрепаратов:
1. Промойте микропрепарат буферным раствором для промывки.
 2. Для сокращения неспецифического фонового окрашивания в результате применения эндогенной пероксидазы, инкубируйте микропрепарат с применением Блока пероксидазы UltraVision в течение 10 минут.
 3. Промойте микропрепарат буферным раствором для промывки.
 4. Используйте Протеиновый блок UltraVision и инкубируйте в течение 5 минут для блокировки неспецифического фонового окрашивания.

ПРИМЕЧАНИЕ: Время инкубации не должно превышать 10 минут, иначе будет сокращение нужной окраски. (Может быть пропущено, если первичные антитела разведены специальным раствором, содержащим блокирующие агенты).

5. Рекомендуется провести этап продувки.
 6. Для определения антитела необходимо выполнять дальнейшие инструкции по применению конкретной системы детекции.
 7. Рекомендуемое время инкубирования антител 20 минут при комнатной температуре.
- III. Контрастное окрашивание и заключение под покровное стекло. Используйте Реагенты для контрастного окрашивания UltraVision Quanto Counterstain Kit, в составе: гематоксилин Майера Quanto; подсинивающий раствор Quanto; заливочная среда Quanto:
1. Промойте микропрепарат в дистиллированной воде.
 2. Для достижения оптимальных результатов нанесите неразбавленный реагент Гематоксилин Майера Quanto не более чем на 2 минуты. Чтобы добиться требуемой интенсивности оттенка, можно отрегулировать время или количество реагента. Инкубационный период можно увеличить до 5 минут, разбавив реагент Гематоксилин Майера Quanto дистиллированной водой (например, 1:5).
 3. Промойте микропрепарат дистиллированной водой.
 4. Нанесите подсинивающий раствор Quanto и выдержите в течение 1 минуты.
 5. Промойте микропрепарат дистиллированной водой.
 6. Извлеките микропрепараты из устройства для автоматического окрашивания Autostainer.
 7. Для хромогенов, входящих в состав систем детекции, устойчивых к спирту и ксилолу (например, DAB Quanto, PFR Quanto):
 - Дегидрируйте ткань на микропрепарате, поместив его в 70 % спирт на 1 минуту.
 - Затем поместите микропрепарат в 95 % спирт на одну минуту.
 - Затем поместите микропрепарат в 100 % спирт 3 раза по одной минуте.
 - Очистите ткань на микропрепарате, поместив его в ксилол или заменитель ксилола на 1 минуту.
 - Залейте микропрепараты заливочной средой Quanto.
 - Для хромогенов, входящих в состав систем детекции, растворимых в спирте и/или ксилоле (например АЕС, Fast Red, BCIP/NBT):
 - Высушите микропрепараты на воздухе, а затем залейте их заливочной средой Quanto.
 8. Накройте покровным стеклом.
 9. Дайте заключенному микропрепарату высохнуть в духовом шкафу в течение 1 часа.

ПРИМЕЧАНИЕ: В случае проведения данного этапа процедуры вручную адап-

тировать следующим образом :

1. Промойте микропрепарат в дистиллированной воде.
2. Для достижения оптимальных результатов используйте неразбавленный Гематоксилин Майера Quanto и нанесите его на микропрепарат или опустите микропрепарат в сосуд с реагентом на время от 30 секунд до 2 минут. Гематоксилин Майера Quanto также можно разбавить дистиллированной водой, чтобы получить требуемый оттенок.
3. Промойте микропрепарат дистиллированной водой 2—4 раза, чтобы добиться оптимальной интенсивности окрашивания.
4. Нанесите подсинивающий раствор Quanto на микропрепарат или опустите микропрепарат в сосуд с реагентом на 1 минуту. Инкубационный период можно отрегулировать для достижения нужной интенсивности синего цвета.
5. Промойте микропрепарат дистиллированной водой 2—4 раза, чтобы добиться оптимальной интенсивности окрашивания.
6. Для хромогенов, входящих в состав систем детекции, устойчивых к спирту и ксилолу (например, DAB Quanto, PFR Quanto):
 - Дегидрируйте ткань на микропрепарате, поместив его в 70 % спирт на 1 минуту.
 - Затем поместите микропрепарат в 95 % спирт на одну минуту.
 - Затем поместите микропрепарат в 100 % спирт 3 раза по одной минуте.
 - Очистите ткань на микропрепарате, поместив его в ксилол или заменитель ксилола на 1 минуту.
 - Залейте микропрепараты заливочной средой Quanto.
- Для хромогенов, входящих в состав систем детекции, растворимых в спирте и/или ксилоле (например AEC, Fast Red, BCIP/NBT):
 - Высушите микропрепараты на воздухе, а затем залейте их заливочной средой Quanto.
7. Накройте покровным стеклом.
8. Дайте заключенному микропрепарату высохнуть в духовом шкафу в течение 1 часа.

СРОК ГОДНОСТИ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Хранение реагентов должно производиться в соответствии с условиями хранения, указанными на этикетке, в упаковке предприятия-изготовителя в течение всего срока годности. Замораживание реагентов не допускается.

Реагенты после вскрытия флакона могут храниться в соответствии с условиями хранения, указанными на этикетке, в течение всего срока годности при условии достаточной герметичности флаконов. Буферные растворы для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителиальных тканей (L, M или H) и Буферные растворы для высокотемпературной обработки эпителиальных тканей (L, M или H) в рабочем разведении могут быть использованы только в течение 1 недели.

- Раствор для разведения антител OP Quanto стабилен в течение 24 месяцев при температуре 2-8°C.
- Реагенты для контрастного окрашивания UltraVision Quanto Counterstain Kit. Каждый компонент набора стабилен в течение 18 месяцев при комнатной температуре.
- Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителиальных тканей L стабилен в течение 12 месяцев при комнатной температуре.
- Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпителиальных тканей M стабилен в течение 12 месяцев при комнатной температуре.

- Буферный раствор для депарафинизации и высокотемпературной обработки эпитопов Н стабилен в течение 12 месяцев при комнатной температуре.
- Блок пероксидазы UltraVision стабилен в течение 24 месяцев при температуре 2-8°C.
- Протеиновый блок UltraVision стабилен в течение 24 месяцев при температуре 2-8°C.
- Буферный раствор для высокотемпературной обработки эпитопов Н стабилен в течение 24 месяцев при комнатной температуре.
- Буферный раствор для высокотемпературной обработки эпитопов L стабилен в течение 24 месяцев при комнатной температуре.
- Буферный раствор для высокотемпературной обработки эпитопов М стабилен в течение 24 месяцев при комнатной температуре.

Для получения хороших результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению реагентов.

Условия применения: все этапы процедуры проводятся при комнатной температуре: +18...+25°C.

УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ

Транспортировка реагентов может осуществляться любыми видами транспорта с соблюдением условий хранения реагентов ($T = 2-8^{\circ}\text{C}$). Реагенты в транспортной упаковке устойчивы к воздействию механических факторов, возникающих при транспортировке. При соблюдении рекомендованного способа хранения все реагенты стабильны до конца срока годности, отмеченного на упаковке. Свойства реагентов обеспечивают возможность применения реагентов после их транспортировки и хранения.

СВЕДЕНИЯ ПО УТИЛИЗАЦИИ И УНИЧТОЖЕНИЮ

Вспомогательные реагенты *in vitro* для проведения иммуногистохимических исследований, производства «Лэб Вижн Корпорэйшн», подразделение «Термо Фишер Сайентифик» (Lab Vision Corporation, subsidiary of Thermo Fisher Scientific), США, предназначены для использования в профессиональных лабораториях.

Для правильной утилизации отходов руководствоваться действующими нормативами:

- Утилизировать реагенты и соответствующие контейнеры в авторизованных пунктах сбора опасных или особых отходов.
- Использовать подходящие контейнеры во избежание загрязнения окружающей среды.

Вспомогательные реагенты *in vitro* для проведения иммуногистохимических исследований не должны утилизироваться через внутреннюю систему удаления отходов или общие устройства для сброса сточных вод. Руководствоваться специальными инструкциями и информационными документами по безопасности.

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует, что при соблюдении правил и условий хранения, транспортировки и эксплуатации изделия соответствуют всем заявленным характеристикам.

Производитель не несет ответственности в случае неправильного использования изделия.

По вопросам, касающимся качества Вспомогательных реагентов *in vitro* для проведения иммуногистохимических исследований, производства «Лэб Вижн Корпорэйшн», подразделение «Термо Фишер Сайентифик» (Lab Vision Corporation, subsidiary of Thermo Fisher Scientific), США, просьба обращаться по адресу:

ООО «ОПТЭК»,
105005, Россия, Москва, Денисовский пер., д. 26,
Тел. (495) 933-51-51, факс (495) 933-51-55,
e-mail: office@optecgroup.com

Генеральный Директор
ООО «ОПТЭК»



Игельник М.С.

Всего пронумеровано, сшито и скреплено
печатью _____ листов
Ген. директор ООО «ОПТЭК»
Игельник М.С.

