

# Antigen Retrieval

## 1. Enzymatische Andauung

0,1 – 1 % Trypsin in A.dest, Standard ist 0,1 %

**Wichtig:** Küvette und Trypsin vorwärmen auf 37 °C

Konzentration muß für den jeweiligen AK ausgetestet werden  
Dauer: 10 min 37 °C, abstoppen in A.dest

Weitere Enzyme zur Andauung: z.B. Protease, Neuraminidase  
Sollte die Andauung mit Trypsin nicht zum Erfolg führen, die anderen Enzyme austesten

## 2. Mikrowellenbehandlung

Gerät: Milestone Microwave Vacuum Histoprocessor RHS-1, **Programm:** GPR 100 C

### 2.1 Citratpuffer

0,1 M Citronensäure Monohydrat (= 5,25 g/250 ml A.dest) = Stammlösung A

0,1 M Na-citrat (= 14,71 g/500 ml A.dest) = Stammlösung B

(die Stammlösungen sind bei 4°C haltbar)

*Gebrauchslösung:* 18 ml Stamm A + 82 ml Stamm B + 900 ml A.dest, pH 6,0 einstellen

### 2.2 EDTA-Puffer

1 mM EDTA (= 0,37 g/1000ml A.dest), pH 8,0 einstellen

Nach dem Antigen Retrieval in der Mikrowelle kühlen die Schnitte in dem jeweiligen Puffer auf RT ab, werden kurz in A.dest gespült, kurz in TBS gespült und dann mit dem Primär-AK inkubiert.

### 2.3 10 mM Tris Puffer, pH 9,8

10 mM Tris, 3 mM EDTA, pH 9,8 mit HCl

Mikrowellenbehandlung und enzymatische Andauung können auch kombiniert werden, dabei ist es unerheblich, ob die Andauung mit dem Enzym vor oder nach der Mikrowellenbehandlung erfolgt.

Für jeden AK müssen die optimalen Bedingungen ausgetestet werden. **Angaben im Datenblatt beachten!!**