

Sposób stosowania TRM-IFU (instrukcja TRM)

205 South 600 West Logan, Utah 84323, Stany Zjednoczone Ameryki – Tel. (800) 729-8350 – Tel. (435) 755-9848 – Faks: (435) 755-0015 – www.scytek.com Wersja 10, 20.12.2022

Zestaw bejc trichromowych (Zmodyfikowany Masson's)

Opis i zasada

Zestaw Trichrome Stain Kit (Modified Masson's) przeznaczony jest do stosowania w histologicznej wizualizacji kolagenowych włókien tkanki łącznej w skrawkach tkanek. Ten zestaw może być stosowany na odcinkach utrwalonych formaliną i zatopionych w parafinie.

Ten zestaw wykorzystuje 3 roztwory barwników stosowane kolejno wraz z roztworem hematoksyliny żelaza, który jest odporny na odbarwienie przez kolejne kwaśne roztwory barwników. Skrawki są najpierw zaprawiane w podgrzanym płynie Bouina, który działa w celu zintensyfikowania kolejnych plam trichromowych. Szkarłat biebrich / Kwaśny roztwór fuksy barwi wszystkie kwasolubne elementy tkankowe na czerwono. Kwas fosfomolibdenowy i fosfowolframowy wypierają czerwony barwnik z włókien kolagenowych, pozostawiając je bezbarwne i podatne na barwienie błękitem anilinowym.

Oczekiwane rezultaty

Kolagen:	Niebieski	
Włókna mięśniowe:	Czerwony	
Jądra:	Ciemnoczerwony	do
czarnego/niebieskiego		

Zawartość zestawu

Składowanie

1. Płyn Bouina	18-25°C
2. Żelazo Weigerta, Hematoksylina (A)	18-25°C
3. Żelazo Weigerta, Hematoksylina (B)	18-25°C
4. Szkarłat biebrichowy / kwaśny roztwór fuksyny	18-25°C
5. Roztwór fosfomolibdenowo-fosfowolframowy	18-25°C
6. Roztwór błękitu anilinowego	18-25°C
7. Roztwór kwasu octowego (1%)	18-25°C

Sugerowane elementy sterujące (brak w zestawie)

Pluca, wątroba, okrężnica, żołądek.

Zastosowania/ograniczenia

Wyłącznie do diagnostyki in vitro.

Nie używać, jeśli odczynniki zmętnieją lub wytrąca się

Nie używaj przeterminowanej daty ważności.

Należy zachować ostrożność podczas obchodzenia się z odczynnikami.

Niesterylne

Przeznaczony do odcinków FFPE ciętych z prędkością 5-10µm.

Ta procedura nie została zoptymalizowana pod kątem zamrożonych sekcji.

Zamrożone sekcje mogą wymagać modyfikacji protokołu.

Składowanie

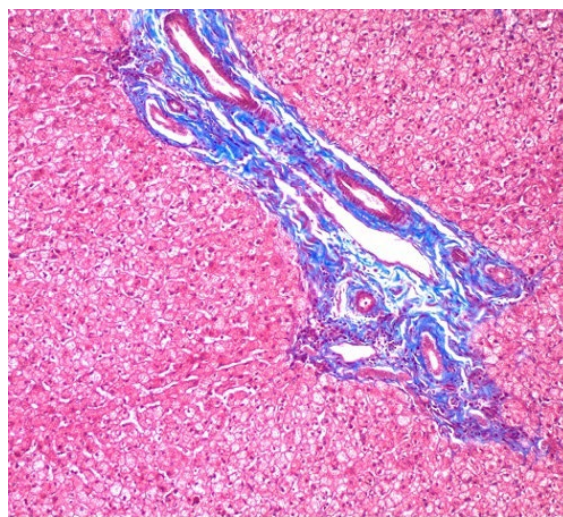
Przechowuj zestaw i wszystkie elementy w temperaturze pokojowej (18-25°C).

Bezpieczeństwo i środki ostrożności

Prosimy o zapoznanie się z aktualnymi kartami charakterystyki (SDS) dla tego produktu i komponentów, klasyfikacją GHS, piktogramami i pełnymi zwrótami wskazującymi rodzaj zagrożenia/środkami ostrożności.

Ważne uwagi:

1. Jeśli końcowe tło jest ciemne lub matowo czerwono-niebieskie, może to być spowodowane nadmiarem szarego tła z żelaznej hematoksyliny Weigerta. W takim przypadku skróć czas barwienia żelaznej hematoksyliny Weigerta dla przyszłych szkiełek (krok 6). Standardowy roztwór kwaśnego alkoholu (brak w zestawie) może być również użyty do usunięcia nadmiaru szarego tła natychmiast po kroku 6.



Human Liver stained with Trichrome Stain Kit (Modified Masson's) viewed at 100X magnification

2. Siła różnicowania roztworu kwasu fosfomolibdenowego / fosfowolframowego jest znacznie zwiększona przez zmieszanie 1: 1 z etanolem (brak w zestawie).

Ta modyfikacja może pozwolić na lepszą wizualizację małych włókien kolagenowych niż tradycyjna metoda, ale usunie czerwoną plamę znacznie szybciej, dlatego należy to robić ostrożnie:

Na przykład wymieszaj:

-1ml etanolu

-1 ml roztworu fosfomolibdeny/kwasu fosfowolframowego

Zastąp krok 11, nakładając roztwór **roboczy** 1:1 na tkankę przez 2-6 minut. Sprawdź szkiełko mikroskopowo pod kątem prawidłowego rozróżnienia i powtórz w razie potrzeby. Po różnicowaniu dobrze słucać wodą dejonizowaną.

Procedura:

1. W razie potrzeby odparafinować skrawki i uwodnić do wody destylowanej.

2. Podgrzej płyn Bouina w łaźni wodnej do 56° - 64° Celsjusza w dygestoriach lub w bardzo dobrze wentylowanym miejscu.

3. Umieść szkiełka w podgrzanym płynie Bouin's Fluid na 60 minut, a następnie na 10-minutowy okres chłodzenia.


4. Opłucz szkiełko w wodzie z kranu, aż sekcja będzie całkowicie czysta.




5. Splucz raz w wodzie destylowanej.
6. Wymieszaj równe części Weigerta (A) i Weigerta (B) oraz szkiełko barwiące z działającą żelazną hematoksyną Weigerta przez 2-4 minuty. Plama jest alkoholowa i podatna na parowanie – Monitoruj i w razie potrzeby dodaj płamę, aby plama nie wyschła na szkiełku. Zaschnięta plama może skutkować nadmiarem szarego tła.
7. Płucz szkiełko pod bieżącą wodą z kranu przez 2 minuty.
8. Splucz szkiełko w wodzie destylowanej.
9. Nałóż roztwór szkarlatu biebricha / kwasowej fuksyny na szkiełko przez 5-10 minut.
10. Splucz szkiełko w wodzie destylowanej.
11. Różnicować w roztworze kwasu fosfomolibdenowego / fosfowolframowego przez 10-15 minut. *Uwaga: Zobacz alternatywną modyfikację w Ważnej uwadze #2 powyżej.*
12. Bez splukiwania nałóż roztwór błękitu anilinowego na szkiełko na 5-10 minut.
13. Splucz szkiełko w wodzie destylowanej.
14. Nałóż roztwór kwasu octowego (1%) na szkiełko przez 3-5 minut.
15. Odwodnić się bardzo szybko w 2 zmianach alkoholu 95%, a następnie w 2 zmianach alkoholu absolutnego.
16. Przezroczysty w ksylenie lub substytucie ksylenu i zamontuj w żywicy syntetycznej.

Odwołania

1. Liu, CT., Hsu, SC., Hsieh, HL. Wsp. Hamowanie sygnalizacji β -kateniny osłabia pogrubienie przetoki tętniczo-żylny w myszy poprzez tłumienie miofibroblastów. *Mol Med* 28, 7 (2022). <https://doi.org/10.1186/s10020-022-00436-1>
2. Zwaans, B.M.M., Carabulea, A.L., Bartolone, S.N. i wsp. Ubytki mikcji w ostrym popromiennym zapaleniu pęcherza moczowego wywołane defektem bariery urotelialnej poprzez utratę E-kadherine, ZO-1 i Uroprakiny III. *Sci Rep* 11, 19277 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98303-2>
3. Kao CT, Chiu YC, Lee AK, Lin YH, Huang TH, Liu YC, Shie MY. Synergiczne działanie Xu Duan połączonych rusztowań zawierających krzemian wapnia / poli- ϵ -kaprolakton zawarty w Sr w celu promowania ekspresji markerów osteogenezy i indukcji regeneracji kości w osteoporozie. *Nauka i inżynieria materiałowa: C*. 2021 Luty;119:111629.
4. Zwaans BM, Wegner KA, Bartolone SN, Vezina CM, Kanclerz MB, Jagńięcina LE. Modelowanie promieniotwórczego zapalenia pęcherza moczowego: badanie porównawcze wrażliwości radiowej zwłóknienia pęcherza moczowego u myszy C57BL / 6, C3H i BALB / c. *Raporty fizjologiczne*. 2020 Luty; 8(4):E14377.
5. Lin YY, Hong Y, Yu SH, Wu XB, Shyu WC, chen JS, Ting H, Yang AL, Lee SD. Antyapoptotyczne i mitochondrialne biogenetyczne efekty treningu fizycznego na owariotomiczne naciśnienie serca szczurów. *Dziennik Fizjologii Stosowanej*. 2019 Kwiecień 18.
6. Callaghan NI, Capaz JC, Lamarre SG, Bourloutski É, Oliveira AR, MacCormack TJ, Driedzic WR, Sykes AV. Powrót do ścieżek rozwojowych leży u podstaw szybkiej regeneracji ramion u młodocianych małpy europejskiej, *Sepia officinalis* (Linneusz 1758). *Journal of Experimental Zoology Część B: Evolucja molekularna i rozwojowa*. 2019 19 marca.
7. Chang RL, Nithiyanantham S, Kuo WW, Pai PY, Chang TT, Lai CH, Chen RJ, Vijaya Padma V, Huang CY, Huang CY. Nadekspresja IGF-II α reguluje przebudowę serca i nasila apoptozę i zwłóknienie wywołane wysoką solą u transgenicznnych szczurów. *Toksykologia środowiskowa*. 2019 Luty; 34(2):210-8.
8. Feng W, Lei T, Wang Y, Feng R, Yuan J, Shen X, Wu Y, Gao J, Ding W, Lu Z. Niedobór GCN2 łagodzi dysfunkcję serca u myszy z cukrzycą poprzez zmniejszenie lipotoksyczności i stresu oksydacyjnego. *Biologia i medycyna wolnorodnika*. 2019 Sty 1;130:128-39.
9. Chang RL, Nithiyanantham S, Kuo WW, Pai PY, Chang TT, Lai CH, Chen RJ, Vijaya Padma V, Huang CY, Huang CY. Nadekspresja IGF-II α reguluje przebudowę serca i nasila apoptozę i zwłóknienie wywołane wysoką solą u transgenicznnych szczurów. *Toksykologia środowiskowa*. 2018 Listopada 18.
10. Liu S, Yuan J, Yue W, Bi Y, Shen X, Gao J, Xu X, Lu Z. Niedobór GCN2 chroni przed stłuszczeniem wątroby wywołanym dietą wysokotłuszczową i insulinopornością u myszy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molekularne podstawy choroby*. 2018 1 października; 1864(10):3257-67.

11. Miyazaki T, Haraguchi S, Kim-Kaneyama JR, Miyazaki A. Śródbłonkowe systemy kalpainowe koordynują różnicowanie miofibroblastów podczas gojenia się ran. *Czasopismo FASEB*. 2018 Wrzesień 10:fj-201800588RR.
12. Zhang Y, Feng J, Wang Q, Zhao S, Xu J, Li H. Agonista rozyglitazonu γ poprawia pogorszenie otrzewnej u dializowanych szczurów z zapaleniem otrzewnej wywołanym LPS poprzez regulację w górę AQP-1 i ZO-1. *Raporty z zakresu nauk biologicznych*. 2018 Czerwiec 5:BSR20180009.
13. Yasuda Y, lwama S, Kiyota A, Izumida H, Nakashima K, lwata N, Ito Y, Morishita Y, Goto M, Suga H, Banno R. Krytyczna rola rabifliny-3A w patofizjologii eksperymentalnego limfocytarnego zapalenia przysadki mózgowej. *Dziennik patologii*. 2018 kwiecień; 244(4):469-78.
14. Feng M, Tang PM, Huang XR, Sun SF, You YK, Xiao J, Lv LL, Xu AP, Lan HY. TGF- β pośredniczy w zwłóknieniu nerek poprzez długą oś niekodującego RNA Smad3-ERBB4-IR. *Terapia molekularna*. 2018 3 stycznia; 26(1):148-61.
15. Lin YC, Lin YC, Kuo WW, Shen CY, Cheng YC, Lin YM, Chang RL, Padma VV, Huang CY, Huang CY. Platykodyna D odwraca patologiczny przerost serca i zwłóknienie u szczurów z samoistnym naciśnieniem. *Amerykańskie czasopismo medycyny chińskiej*. 2018; 46(03):537-49.
16. Kim JH, Suk S, Jang WJ, Lee CH, Kim JE, Park JK, Kweon MH, Kim JH, Lee KW. Ekstrakt z salicornia łagodzi wywołane solą zaostrenie niealkoholowej stłuszczeniowej choroby wątroby u otyłych myszy karmionych dietą wysokotłuszczową. *Czasopismo nauk o żywności*. 2017 lipiec; 82(7):1765-74.
17. Lin YY, Hsieh PS, Cheng YJ, Cheng SM, Chen CN, Huang CY, Kuo CH, Kao CL, Shyu WC, Lee SD. Antyapoptotyczne i pro-survivalowe skutki ograniczenia żywności na otyłe serca wywołane dietą wysokotłuszczową. *Toksykologia sercowo-naczyniowa*. 2017 Kwiecień 1; 17(2):163-74.
18. Chiu HW, Chen CH, Chen YJ, Hsu YH. Daleka podczerwień hamuje fotostarzenie się skóry u fibroblastów wystawionych na działanie promieniowania ultrafioletowego B i myszy bezwłosych. *PLoS jeden*. 2017 16 marca; 12(3):E0174042.
19. Duru N, Zhang Y, Gernapudi R, Wolfson B, Lo PK, Yao Y, Zhou Q. Utrata miR-140 jest kluczowym czynnikiem ryzyka zwłóknienia płuc wywołanego promieniowaniem poprzez przeprogramowanie fibroblastów i makrofagów. *Raporty naukowe*. 2016 Grudzień 20;6:39572.
20. Kuo TM, Hsu HT, Chung CM, Yeh KT, Wu CT, Lee CP, Chiang SL, Huang CM, Ko YC. Wzmocniona kinaza alfa 1 przyspiesza wiele wczesnych nefropatii u myszy z hiperlipkemią wywołaną streptozotocyną. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molekularne podstawy choroby*. 2016 1 listopada; 1862(11):2034-42.
21. Zwaans BM, Krueger S, Bartolone SN, Kanclerz MB, Marples B, Jagńięcina LE. Modelowanie przewlekłego zapalenia pęcherza moczowego wywołanego promieniowaniem u myszy. *Postępy w radioterapii onkologicznej*. 2016 Sierpnie 1.
22. Chen YF, Shibu MA, Fan MJ, Chen MC, Wiceprezes Viswanadha, Lin YL, Lai CH, Lin KH, Ho TJ, Kuo WW, Huang CY. Ekstrakt z antocyjanów z fioletoowego ryżu chroni czynność serca w sercach szczurów z cukrzycą wywołaną STZ, hamując przerost serca i zwłóknienie. *Dziennik biochemii żywienia*. 2016 Maj 1;31:98-105.
23. Kwiatkowski A, Piątkowski M, Chen M, Kan L, Meng Q, Fan H, Osman AH, Liu Z, Ledford B, He J-Q. Lepsza angiogeneza ułatwia odrastanie palców u myszy MRL / MpJ w porównaniu do myszy C57BL/6. *Komunikacja w zakresie badań biochemicznych i biofizycznych*. 2016 13 maja; 473(4):907-12.
24. M.-C. Chen, J.-P. Chang, T.-H. Chang, S.-D. Hsu, H.-D. Huang, W.-C. Ho, F.-S. Wang, C.-C. Hsiao i W.-H. Liu, "Odkrywanie mechanizmów regulacyjnych przebudowy przedstonków u świni z niedomykalnością zastawki mitralnej za pomocą analizy profilowania ekspresji genów: rola antagonisty receptora angiotensyny II typu I", *Translational Research*, tom 165, nr 5, s. 599-620, maj 2015 r.
25. C.-H. Lin, M.-L. Shen, S.-T. Kao i D. C. Wu, "Wpływ sezaminy na zwłóknienie dróg oddechowych in vitro i in vivo", *International Immunopharmacology*, tom 22, nr 1, s. 141-150, wrzesień 2014.
26. J.-W. Yu, W.-J. Duan, X.-R. Huang, X.-M. Meng, X.-Q. Yu i H.-Y. Lan, "MicroRNA-29b hamuje zwłóknienie otrzewnej w mysim modelu dializy otrzewnej", *Lab Invest*, tom 94, nr 9, s. 978-990, wrzesień 2014.
27. B.-C. Wu, S.-C. Huang i S.-J. Ding, "Porównawcza osteogeneza nieprzepuszczalnego dla promieni rentgenowskich cementu dwuwapniowo-krzemianowego i białego kruszywa trójtenku mineralnego w modelu kości udowej królika", *Materials*, vol. 6, nr 12, s. 5675-5689, grudzień 2013 r.
28. H. M. Kim, Y. Y. Lim, M. Y. Kim, I. P. Son, D. H. Kim, S. R. Park, S. K. Seo, M. S. Lee, S.-K. Mun, C. W. Kim i B. J. Kim, "Hamujący wpływ tianepiny na indukcję katagenu w zmianach podobnych do łysienia plackowatego wywołanych stresem fal ultradźwiękowych u myszy", *Clin Exp Dermatol*, tom 38, nr 7, s. 758-767, październik 2013 r.
29. E. Nusayr, D. T. Sadideen i T. Doetschman, "FGF2 moduluje przebudowę serca w sposób specyficzny dla izoforny i płci", *Physiological Reports*, tom 1, nr 4, wrzesień 2013.
30. E. Kniazeva, S. Kachgal i A. J. Putnam, "Wpływ gęstości macierzy zewnątrzkomórkowej i mezenchymalnych komórek macierzystych na neowaskularyzację in vivo", *Inżynieria tkankowa część A*, tom 17, nr 7-8, s. 905-914, kwiecień 2011.
31. R. Bekeredjian, C. B. Walton, K. A. MacCannell, J. Ecker, F. Kruse, J. T. Outten, D. Sutcliffe, R. D. Gerard, R. K. Bruick i R. V. Shohet, "Warunkowa ekspresja HIF-1 α powoduje odwracalną kardiomiopatię", *PLoS ONE*, vol. 5, nr 7, p. e11693, lipiec 2010.
32. A.F.I.P. Metody laboratoryjne w histotechnologii; 1992, strony 132-133.
33. Sheehan, DC., Hrapchak, BB. teoria i praktyka histotechniki; 1980, strona 190.

 SeyTek Laboratories, Inc.
205 South 600 West
Logan, UT 84321
435-755-9848
U.S.A.

 

Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague, The Netherlands