

Zestaw bejc Movat Pentachrome (Zmodyfikowany Russell-Movat)

Opis i zasada

Ten zestaw barwników Movat Pentachrome (zmodyfikowany Russell-Movat) jest przeznaczony do stosowania w histologicznej demonstracji kolagenu, elastyny, mięśni i mucyn w skrawkach FFPE. Procedura ta była historycznie szczególnie przydatna podczas badania serca, naczyń krwionośnych i różnych chorób naczyniowych.

Cała tkanka jest początkowo przebarwiona działającym roztworem elastycznego barwnika typu Verhoeffa, który zawiera nieutlenioną hematoksylinę, utleniacz (chlorek żelaza) i zaprawę (jod). Nadmiar barwienia elastyną jest następnie usuwany z tkanki za pomocą rozcieńzonego roztworu chlorku żelaza, który odróżnia elastynę i jądra (czarne) od reszty tkanki. Błękit alcyjany, barwnik ftalocyaniny miedzi, jest następnie używany do wiązania kwaśnych mucyn zapewniających jasnoniebieski kolor. Następnie stosuje się barwienie trichromowe przy użyciu szkarłatu/kwasu biebrich, kwasu fosfowolframowego i zastrzeżonego roztworu żółtego bejcowania, dając czerwone mięśnie i żółty kolagen.

Oczekiwane rezultaty

Włókna elastyczne:	Czarny
Jądra:	Niebieski/do Czerwonego
Kolagen:	Żółty do czerwonego
Mucyny:	Jasny niebieski
Mięsień:	Czerwony

Zawartość zestawu

Zawartość zestawu	Składowanie
1. Roztwór hematoksyliny (5%)	18-25°C
2. Roztwór chlorku żelaza (10%)	18-25°C
3. Płyn Lugola	18-25°C
4. Roztwór chlorku żelaza (2%)	18-25°C
5. Roztwór tiosiarczuanu sodu (5%)	18-25°C
6. Roztwór kwasu octowego (1%)	18-25°C
7. Roztwór błękitu alcyjkiego, pH 2,5	18-25°C
8. Szkarłat biebrich – kwaśny roztwór fuksyny	18-25°C
9. Roztwór kwasu fosfowolframowego (5%)	18-25°C
10. Roztwór żółtej plamy	18-25°C

Sugerowane elementy sterujące (brak w zestawie)

Serce, płuca, skóra, przewód pokarmowy

Zastosowania/ograniczenia

Wyłącznie do diagnostyki in vitro.

Nie używać, jeśli odczynniki zmętnieją lub wytrąca się. Nie używaj odczynników, których termin ważności upłynął.

Należy zachować ostrożność

podczas obchodzenia się z

odczynnikami. Niesterylne

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

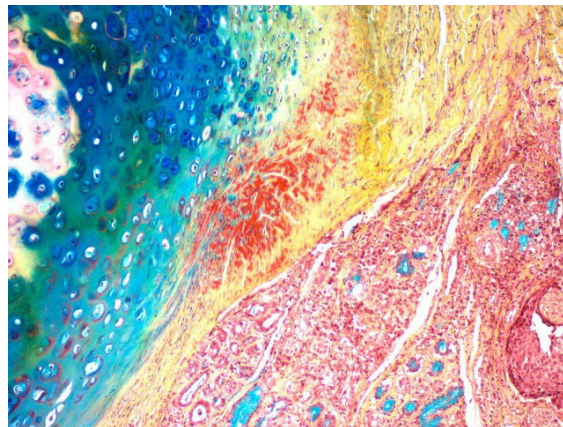
Ta procedura nie została zoptymalizowana pod kątem zamrożonych sekcji. Zamrożone sekcje mogą wymagać modyfikacji protokołu.

Składowanie

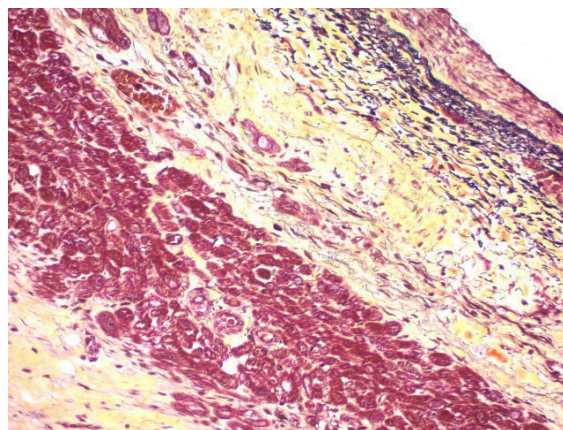
Przechowuj zestaw i wszystkie elementy w temperaturze pokojowej (18-25°C).

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.



Rysunek 1 Barwienie Movat Pentachrome na ludzkim płucu



Rysunek 2. Movat Pentachrome barwienie na ludzkim sercu.

Przygotowanie odczynników przed rozpoczęciem:

Przygotuj **roboczy roztwór elastycznej bejcy**, mieszając: 2 części roztworu hematoksyliny (5%)
1 część roztworu chlorku żelaza (10%) 1 część płynu Lugola Jodu.

(roztwór mieszany można stosować przez 24 godziny)

Przykład: 2 ml roztworu hematoksyliny, 1 ml chlorku żelaza, 1 ml jodu Lugola.

Przykład (zakraplacz): Użyj dołączonej fiołki z podziałką - 14 kropli (560 µl) + 7 kropli (280µl) + 7 kropli (280µl) Razem: 1120µl lub 1,12ml (1 kropla = ~40µl)

Sugerujemy przygotowanie co najmniej 1 ml roztworu roboczego na szkiełko w przypadku barwienia na szkiełkach poziomych, ponieważ roztwór jest alkoholowy i bardziej podatny na parowanie.

Uwagi dotyczące optymalizacji barwienia

1. Nuty barwienia elastyny: Ten roztwór ma wysoką zawartość alkoholu i jest podatny na parowanie. W przypadku barwienia na szkiełkach ułożonych poziomo, monitoruj i w razie potrzeby dodaj więcej płamy, aby zapobiec wysychaniu płamy na szkiełku. Zakrycie szkiełka w celu zmniejszenia narażenia na prądy powietrza może również pomóc w zapobieganiu parowaniu. Większe różnicowanie może być potrzebne, jeśli roztwór wyschnie na tkance.

2. Uwagi dotyczące różnicowania: Każde szkiełko może wymagać unikalnej liczby zanurzeń w celu optymalnego różnicowania w oparciu o barwienie elastyny i zastosowany blok tkankowy. Makroskopowo, nawet dobrze różnicowane szkiełka będą po tym etapie szarawe (w zależności od ilości elastyny i jąder w tkance). Na tym etapie szkiełka mogą być również sprawdzane pod mikroskopem w celu optymalnego rozróżnienia. Gdy cały zestaw jest kompletny, jeśli spodziewane są włókna elastyny, ale nie są one poplamione (nadmiernie różnicowane), zmniejsz liczbę zanurzeń na przyszłych szkiełkach. Jeśli widoczna jest delikatna elastyna, ale inne elementy tkanki również pozostają szarawe (nieodstatecznie różnicowane), konieczne będzie więcej zanurzeń, aby usunąć nadmiar płamy na przyszłych szkiełkach. Sugerujemy próbę niedostatecznego różnicowania za pomocą nowych tkanek, aby zlokalizować całą dostępną elastynę, a następnie zwiększenie różnicowania za pomocą kolejnych ślajdów, aż szarawe tło nie będzie już widoczne, ale pozostaną drobne włókna elastyny.

3. Uwagi dotyczące barwienia mięśni i kolagenu (kroki 10-15): Różnicowanie i intensywność barwienia kolorów żółtego i czerwonego można kontrolować poprzez zwiększanie i/lub zmniejszanie czasu barwienia szkarłatu biebricha - kwaśnego roztworu fuksyny (krok 12), roztworu kwasu fosfowolframowego 5% (krok 14) i żółtego roztworu barwiącego (krok 17). Zawsze splukuj roztwór żółtej płamy alkoholem bezpiecznym. Płukanie w wodzie bardzo szybko usunie plamę i może zmienić wyniki. Mikroskopijnie, po różnicowaniu w kolagenie może pozostać trochę czerwieni lub różu. Jest to dopuszczalne i nadal zostanie wyparte przez późniejszą żółtą plamę.

Procedura:

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

2. Zabarwić sekcję tkanki roztworem roboczym elastycznym przez 20 minut.

Zobacz Nuty barwienia elastyny powyżej

3. Splukuj pod bieżącą wodą z kranu przez 1 minutę, a następnie splucz wodą dejonizowaną.

4. Rozróżnij szkiełko w roztworze różnicującym chlorku żelaza (2%), wlewając do małego słoika do barwienia i zanurzając szkiełko 10-20 razy. **Patrz uwagi dotyczące różnicowania powyżej.** W razie potrzeby kontynuuj różnicowanie.

5. Splucz w wodzie z kranu, a następnie splucz w wodzie destylowanej.

6. Zastosuj roztwór tiosiarczanu sodu (5%) i inkubuj przez 1 minutę.

7. Dobrze splucz wodą destylowaną.

8. Barwić tkankę roztworem Alcian Blue o pH 2,5 przez 15-30 minut.

9. Przepłukać szkiełko wodą destylowaną.

10. Szkiełko w roztworze Biebrich Scarlet – Acid Fuchsin przez 2 minuty. **Zobacz uwagi dotyczące barwienia mięśni i kolagenu powyżej.**

11. Przepłukać szkiełko wodą destylowaną.

12. Rozróżnij, nakładając dwie rundy roztworu kwasu fosfatogstycznego (5%) przez 7 minut każda.

13. Przepłukać szkiełko wodą destylowaną.

14. Zastosuj roztwór kwasu octowego (1%) przez 3 minuty.

15. Odlej roztwór kwasu octowego (1%) i zaplamij roztworem żółtej płamy przez 10-20 minut.

17. Odwodnić w alkoholu bezwodnym, **nie odwadniać przez sortowane alkohole zawierające wodę. Żółta plama może zmienić kolor alkoholu odwadniającego na żółty.**

18. Przezroczysty w ksylenie lub substytut i zamontowany w żywicy syntetycznej.

Odwołania

- He, J., Yan, J., Wang, J. i in. Analiza ontogenezy ludzkich embrionalnych komórek macierzystych szkieletu za pomocą analiz transkryptomicznych i funkcjonalnych pojedynczych komórek. *Komórka Res* 31, 742–757 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41422-021-00467-z>
- Zhou Zhen, Peters Andrew M., Wang Shanzhi, Janda Alexandra, Chen Jiyuan, Zhou Ping, Arthur Erin, Kwartler Callie S. i Milewicz Dianna M. "Odwrocenie powiększenia aorty wywołane zwiększonymi siłami biomechanicznymi wymaga hamowania AT1R w połączeniu z aktywacją AT2R." *Miażdżyca, zakrzepica i biologia naczyniowa* 39, Nie. 3 (Marzec 1, 2019): 459–66. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.118.312158>.
- Pu, Lei, Jian Wu, Xingna Pan, Zongliu Hou, Jing Zhang, Wenmin Chen, Zhuhui Na, et al. "Określanie optymalnego protokołu przygotowania bezkomórkowego rusztowania naczyń krwionośnych o małej średnicy inżynierii tkankowej". *Journal of Biomedical Materials Research Część B: Biomateriały Stosowane* 106, nr 2 (2018): 619–31. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.33827>.
- Dahal, Sudip, Peter Huang, Bruce T. Murray i Gretchen J. Mahler. "Transformacja śródbłonka w mezenchymalną jest indukowana przez zmienioną macierz zewnątrzkomórkową w komórkach śródbłonka zastawki aortalnej". *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 105, nr 10 (2017): 2729–41. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36133>.
- Deb, Partha Pratim i Anand Ramamurthi. "Mapowanie czasoprzestrzenne przebudowy macierzy i dowody elastogenezy in situ w eksperymentalnych tętniakach aorty brzusznej." *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine* 11, nr 1 (2017): 231–45. <https://doi.org/10.1002/term.1905>.
- Leng, Shuilong, Stephen Iwanowycz, Fatma Saaoud, Junfeng Wang, Yuzhen Wang, Ismail Sergin, Babak Razani i Daping Fan. "Kwas ursolowy zwiększa autofagię makrofagów i osłabia miażdżycę". *Journal of Lipid Research* 57, nr 6 (1 czerwca 2016): 1006–16. <https://doi.org/10.1194/jlr.M065888>.
- Alfonso, Abraham R., Sasmita Rath, Parvin Rafiee, Mario Hernandez-Espino, Mahreen Din, Florence George i Sharan Ramaswamy. "Uwięzienie glikozaminoglikanu przez fibrynę w zmodyfikowanych tkankach zastawki serca". *Acta Biomaterialia* 9, nr 9 (1 września 2013): 8149–57. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.06.009>.
- Movat, H.Z. Demonstracja wszystkich elementów tkanki łącznej w jednej sekcji, *Arch Pathology*, 1955, tom 60, strona 289.

16. Dokładnie splucz szkiełko w bezalkoholowym roztworze alkoholu. **Nie splukuj wodą, splukanie wodą usunie żółtą plamę.**



SeyTek Laboratories, Inc. 205
Południe 600 Zachód
Logan, UT 84321
435-755-9848
Stany Zjednoczone Ameryki



EC REP

Emergo Europe Prinsessegracht 20
2514 AP Haga, Holandia