

Fast Red Substrate Pack

Cat. No. 00-2234

Fast Red Substrate Pack

Alkaline Phosphatase Substrate Chromogen for Tissue Staining

The Fast Red Substrate Pack is a substrate chromogen system for alkaline phosphatase immunohistostaining of tissues and cells.

REAGENTS & MATERIALS PROVIDED

1. 12 Fast Red chromogen tablets
2. 12 Vials of Fast Red substrate buffer (5 mL naphthol AS-MX phosphate in Tris-HCl buffer)

STORAGE & HANDLING

Store at 2-8 °C.

STABILITY

With proper storage, there is no significant loss in performance. Any storage conditions other than those specified must be validated by the user.

DIRECTIONS FOR USE

1. Dissolve one Fast Red tablet into one 5 mL buffer vial. Chromogen must be used within 1 hour.
2. Vortex until tablet is dissolved.
3. Apply 100 µL or more with Fast Red substrate-chromogen solution to completely cover tissue section. Allow at least 10 minutes, at room temperature, for the color to develop
4. Rinse well with distilled water. Fast Red is alcohol soluble, DO NOT dehydrate tissues after staining.
5. Apply appropriate counterstain for maximum contrast (see materials not provided).
6. Mount microscope slide with GVA or Clearmount™ mounting media.

EXPECTED IMMUNOSTAINING

Fast Red will generate a bright red positive stain in the presence of alkaline-phosphatase. The immunostaining quality will reflect the effects of tissue preparation as well as antigen concentration.

TROUBLESHOOTING

Possible causes for negative staining on positive slides:

1. Steps in the staining protocol were performed in incorrect sequence.
2. Primary or secondary antibody incubation steps were omitted.
3. Labile antigens were destroyed.
4. Specimen was improperly fixed and/or processed.
5. Specimen dehydrated during staining.

Possible causes for weak staining on all slides:

1. Specimen retained excess liquid after rinsing steps.
2. Incubation times were insufficient.
3. Substrate prepared improperly.
4. Deparaffinization was incomplete (staining may be accompanied by high background).

Possible causes for high background staining:

1. Endogenous peroxidase activity was incompletely blocked.
2. Deparaffinization was incomplete.
3. Excessive application of tissue adhesive.
4. Inadequate rinsing of slides.
5. Over-development of substrate.
6. Dehydration of specimen during staining.

LIMITATIONS

Appropriate handling and processing of tissue prior to immunostaining is necessary for proper results. Improper procedures may result in false positives due to antigen diffusion or non-specific charge interaction. In addition, improper fixation, freezing, thawing, washing, drying, heating, sectioning, or contamination with other tissues or fluids may produce artifacts, antibody trapping or false negative results. Inconsistent results may be due to variations in fixation and embedding methods or to inherent irregularities within the tissue. If some tissues are found to exhibit unusual immunostaining, Invitrogen encourages you to report these findings to its Technical Service Department.

SAFETY & PRECAUTIONS

1. The Fast Red chromogen has been classified as a potential carcinogen and can cause skin irritation upon contact. Avoid skin contact but if this occurs, flush immediately with generous amounts of water.
2. The sodium azide (NaN₃) used as a preservative is toxic if ingested. The concentration of sodium azide in the Fast Red Substrate Pack is in minimal amounts at 0.1%.
3. Always use the Fast Red Substrate Pack in a well-ventilated area such as a fume hood.

TRADEMARK

Clearmount™, Histomount™, Histostain™, Zymed® are trademarks of Zymed® Laboratories, Inc.

Authorized Representative for IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd., Inchinnan Business Park, 3 Fountain Drive, Paisley, PA4 9RF, UK

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI002234

(Rev 10/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Paquete de sustrato Fast Red

CAT. Nº 00-2234

Paquete de sustrato Fast Red

Sustrato cromógeno de fosfatasa alcalina para tinción tisular

El paquete de sustrato Fast Red es un sistema sustrato-cromógeno para la inmunotinción de tejidos y células.

REACTIVOS Y MATERIALES PROVISTOS

1. 12 comprimidos de cromógeno Fast Red
2. 12 ampollas de tampón sustrato Fast Red (5 mL naftol AS-MX fosfato en tampón Tris-HCl)

ALMACENAJE Y MANIPULACIÓN

Guardar a 2-8 °C.

ESTABILIDAD

Si se guarda como corresponde no se produce pérdida significativa del rendimiento. Cualquier condición de almacenamiento que no se encuentre entre las especificadas, debe ser validada por el usuario.

INSTRUCCIONES DE USO

1. Disolver un comprimido Fast Red en una ampolla de 5 ml de tampón. El cromógeno debe utilizarse dentro de la hora.
2. Agitar hasta que se disuelva el comprimido.
3. Aplicar 100 µL o más de solución sustrato-cromógeno Fast Red hasta cubrir el corte de tejido en su totalidad. Dejar por lo menos 10 minutos a temperatura ambiente para que se desarrolle el color.
4. Enjuagar bien con agua destilada. El Fast Red es soluble en alcohol. NO deshidrate los tejidos después de la tinción.
5. Para lograr el contraste máximo, aplicar la contratinción adecuada (consulte la lista de materiales no suministrados).
6. Coloque el porta con medio de montaje GVA o Clearmount™.

INMUNOTINCIÓN ESPERADA

En presencia de fosfatasa alcalina, el Fast Red generará una tinción positiva rojo brillante. La calidad de la inmunotinción reflejará los efectos de la preparación del tejido y la concentración de antígeno.

DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO DE AVERÍAS

Causas posibles de la tinción negativa en portaobjetos positivos:

1. Los pasos en el protocolo de tinción se realizaron en una secuencia incorrecta.
2. Se omitieron los pasos de incubación del anticuerpo primario o secundario.
3. Se destruyeron antígenos lábiles.
4. La muestra no se fijó y/o procesó correctamente.
5. La muestra se deshidrató durante la tinción.

Causas posibles de la tinción débil en todos los portaobjetos:

1. La muestra retuvo exceso de líquido después de los aclarados.
2. Los tiempos de incubación no fueron suficientes.
3. El sustrato no se preparó correctamente.
4. La desparafinización fue incompleta (la tinción puede acompañarse por un fondo elevado).

Causas posibles para la tinción elevada del fondo:

1. La actividad de la peroxidasa endógena no se bloqueó completamente.
2. La desparafinización fue incompleta.
3. Aplicación excesiva del adhesivo tisular.
4. Aclarado inadecuado de los portaobjetos.
5. Excesivo desarrollo del sustrato.
6. Deshidratación de la muestra durante la tinción.

LIMITACIONES

Para obtener resultados correctos, es preciso manejar y procesar el tejido adecuadamente antes de la inmunotinción. El uso de procedimientos inadecuados puede dar como resultado falsos positivos debido a la difusión del antígeno o a la interacción de carga no específica. Además, la fijación inadecuada, la congelación, el deshielo, el lavado, el secado, el calentamiento, el corte o la contaminación con otros tejidos o fluidos puede producir resultados artificiales, retención de anticuerpos, o resultados negativos falsos. Los resultados desiguales pueden deberse a variaciones en los métodos de fijación e inclusión, o a irregularidades inherentes del tejido. Si descubre que algunos tejidos presentan inmunotinción inusual, Invitrogen le recomienda que se comunique con su Departamento de Servicio Técnico.

SEGURIDAD Y PRECAUCIONES

1. El cromógeno Fast Red ha sido clasificado como un carcinógeno potencial y el contacto con la piel puede causar irritación. Evitar el contacto cutáneo. Si se produjese contacto, enjuagar de inmediato con cantidades abundantes de agua.
2. La azida de sodio (NaN₃), usada como conservante, puede ser tóxica en caso de ingestión. La concentración de azida de sodio en el paquete de sustrato Fast Red está en cantidades mínimas al 0,1%.
3. Usar siempre el paquete de sustrato Fast Red en áreas bien ventiladas como por ejemplo una campana extractora.

MARCA REGISTRADA

Clearmount™, Histomount™, Histostain™, Zymed® son marcas registradas de Zymed® Laboratories, Inc.

Representante autorizado de IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd., Inchinnan Business Park, 3 Fountain Drive, Paisley, PA4 9RF, UK

Paquet de substrat rouge fixe NO DE CAT. 00-2234

Paquet de substrat rouge fixe Substrat chromogène de phosphatase alcaline pour la coloration de tissus

Le paquet de substrat rouge fixe est un système de substrat chromogène pour l'immunohistocoloration de la phosphatase alcaline de tissus et de cellules.

RÉACTIFS ET MATÉRIEL FOURNIS

1. 12 comprimés de chromogène rouge fixe
2. 12 flacons de tampon de substrat rouge fixe (5 mL de phosphate de naphthol AS-MX dans un tampon Tris-HCl)

STOCKAGE ET MANIPULATION

Conserver entre 2 et 8 °C.

STABILITÉ

Il n'y aura pas de perte de performance importante si les conditions de stockage sont adéquates. Toute condition de stockage autre que celle spécifiée doit être validée par l'utilisateur.

MODE D'EMPLOI

1. Dissoudre un comprimé de rouge fixe dans un flacon de 5 mL de tampon. Le chromogène doit être utilisé dans l'heure qui suit.
2. Faire tourbillonner jusqu'à dissolution du comprimé.
3. Appliquer 100 µL ou plus d'une solution substrat-chromogène rouge fixe afin de recouvrir entièrement la section de tissu. Laisser la couleur se développer pendant au moins 10 minutes à température ambiante
4. Bien rincer à l'eau distillée. Le rouge fixe est soluble dans l'alcool, NE PAS déshydrater les tissus après la coloration.
5. Appliquer une coloration de contraste appropriée pour un contraste maximal (voir matériaux non fournis).
6. Monter la lame du microscope à l'aide d'un support GVA ou Clearmount™.

IMMUNOCOLORATION PRÉVUE

Le rouge fixe produira une coloration positive d'un rouge vif en présence de phosphatase alcaline. La qualité de l'immunocoloration reflètera les effets de la préparation du tissu ainsi que la concentration en antigènes.

DÉPANNAGE

Causes possibles d'une coloration négative sur des lames positives :

1. Les étapes du protocole de coloration n'ont pas été exécutées dans le bon ordre.
2. Les étapes d'incubation des anticorps primaires ou secondaires ont été omises.
3. Les antigènes labiles ont été détruits.
4. Le spécimen était mal attaché et/ou traité.
5. Le spécimen s'est déshydraté pendant la coloration.

Causes possibles pour une coloration faible sur toutes les lames :

1. Le spécimen a retenu un excès de liquide après les étapes de rinçage.
2. Les temps d'incubation n'étaient pas suffisants.
3. Le substrat était mal préparé.
4. La déparaffination était incomplète (la coloration peut être accompagnée d'une coloration de fond élevée).

Causes possibles pour une coloration de fond élevée :

1. L'activité de la peroxydase endogène n'était pas complètement bloquée.
2. La déparaffination était incomplète.
3. Application excessive de l'adhésif tissulaire.
4. Mauvais rinçage des lames.
5. Surdéveloppement du substrat.
6. Déshydratation du spécimen pendant la coloration.

LIMITATIONS

Une manipulation et un traitement appropriés des tissus avant l'immunomarquage sont nécessaires pour obtenir des résultats corrects. Toute procédure erronée risque d'entraîner des positifs faux suite à une diffusion d'antigènes ou à une interaction non spécifique des charges. En outre, une fixation, une congélation, un dégel, un lavage, un séchage, un chauffage, un sectionnement erroné ou toute contamination par d'autres tissus ou liquides risque de causer des artefacts, un piégeage d'anticorps ou de faux résultats négatifs. Des résultats non homogènes peuvent être dus à des modifications des méthodes de fixation ou d'enrobage, ou à des irrégularités propres au tissu. Si certains tissus présentent un immunomarquage inhabituel, Invitrogen vous conseille de faire part de ces résultats à son service technique.

SÉCURITÉ ET PRÉCAUTIONS

1. Le chromogène rouge fixe a été classifié comme étant un cancérigène potentiel et il risque de causer une irritation en cas de contact avec la peau. Éviter tout contact avec la peau. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment avec l'eau.
2. L'azote de sodium (NaN₃) utilisé comme agent de conservation est toxique s'il est ingéré. Les quantités de concentration d'azote de sodium dans le paquet de substrat rouge fixe sont minimales à 0,1 %.
3. Toujours utiliser le paquet de substrat rouge fixe dans un endroit bien aéré tel qu'à proximité d'une hotte.

MARQUE DE COMMERCE

Clearmount™, Histomount™, Histostain™, Zymed® sont des marques de commerce de Zymed® Laboratories, Inc.

Représentant Autorisé pour IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd., Inchinnan Business Park, 3 Fountain Drive, Paisley, PA4 9RF, UK

Compressa di substrato di rosso solido N. CAT. 00-2234

Compressa di substrato di rosso solido Cromogeno di substrato della fosfatasi alcalina per la colorazione tissutale

La compressa di substrato di rosso solido è un sistema cromogenico di substrato per l'immunocolorazione della fosfatasi alcalina di tessuti e cellule.

REAGENTI E MATERIALI ACCLUSI

1. 12 compresse cromogeniche di rosso solido
2. 12 boccette di tampone di substrato di rosso solido (5 mL fosfato AS-MX naftolo in tampone Tris-HCl)

CONSERVAZIONE E MANIPOLAZIONE

Conservare a 2-8 °C.

STABILITÀ

Se si osservano le debite modalità di conservazione, non vi è alcuna perdita di performance significativa. Qualsiasi condizione di conservazione diversa da quelle specificate deve essere convalidata dall'utente.

ISTRUZIONI PER L'USO

1. Sciogliere la compressa di rosso solido in una boccetta tampone da 5 mL. Il cromogeno deve essere utilizzato entro 1 ora.
2. Lasciare sotto agitazione sino allo scioglimento completo della compressa.
3. Applicare 100 µL o più di soluzione cromogenica di substrato di rosso solido in modo da ricoprire completamente la sezione tissutale. Lasciare sviluppare per almeno 10 minuti a temperatura ambiente.
4. Risciacquare accuratamente con acqua distillata. Il rosso solido è solubile in alcol, NON deidratare i tessuti dopo la colorazione.
5. Applicare una controcolorazione adeguata per massimizzare il contrasto (pregasi consultare l'elenco dei materiali non acclusi).
6. Fissare il vetrino da microscopio con GVA o con il mezzo di fissaggio Clearmount™.

IMMUNOCOLORAZIONE ATTESA

Il rosso solido genera una colorazione rosso brillante in presenza di fosfatasi alcalina. La qualità della immunocolorazione dipende dalle modalità osservate per la preparazione del tessuto nonché dalla concentrazione antigenica.

RISOLUZIONE DEI PROBLEMI.

Cause possibili di colorazione negativa nei vetrini positivi:

1. Le fasi previste dal protocollo di colorazione non sono state eseguite nell'ordine corretto.
2. Sono state omesse le fasi di incubazione dell'anticorpo primario e secondario.
3. Sono stati distrutti degli anticorpi labili.
4. I provini non sono stati debitamente fissati e/o trattati.
5. I provini si sono disidratati nel corso della colorazione.

Cause possibili di colorazione debole in tutti i vetrini:

1. I provini hanno trattenuto il liquido in eccesso accumulatosi durante le fasi di risciacquo.
2. Sono stati osservati tempi di incubazione insufficienti.
3. Il substrato non è stato preparato correttamente.
4. Deparaffinizzazione incompleta (la colorazione potrebbe essere accompagnata da fondo elevato).

Cause possibili di colorazione con fondo elevato:

1. L'attività perossidasi endogena non è stata bloccata completamente.
2. Deparaffinizzazione incompleta.
3. Applicazione di un quantitativo eccessivo di adesivo per tessuti.
4. Risciacquo inadeguato dei vetrini.
5. Sovrasviluppo del substrato.
6. Disidratazione dei provini durante la colorazione.

LIMITAZIONI

Ai fini del conseguimento di risultati corretti, il tessuto deve essere debitamente manipolato e preparato prima dell'immunocolorazione. L'osservanza di procedure inadeguate potrebbe dar adito a risultati falsi positivi causati dalla diffusione dell'antigene o da un'interazione di carica aspecifica. Inoltre, operazioni scorrette di fissaggio, congelamento, scongelamento, lavaggio, asciugatura, riscaldamento o sezionatura, oppure la contaminazione con altri tessuti o liquidi potrebbero dare origine ad artefatti, all'intrappolamento dell'anticorpo o a risultati falsi negativi. Il conseguimento di risultati incoerenti potrebbe essere imputabile a modifiche apportate ai metodi di fissaggio o inclusione o ad anomalie insite a carico del campione tissutale. Comunicare qualsiasi eventuale immunocolorazione anomala dei tessuti al Reparto di assistenza tecnica della Invitrogen.

SICUREZZA E PRECAUZIONI

1. Il cromogeno di rosso solido è stato classificato quale sostanza potenzialmente cancerogena e può causare irritazioni cutanee al contatto. Evitare il contatto con la cute. In caso di contatto accidentale risciacquare immediatamente con acqua abbondante.
2. L'azoturo di sodio (NaN₃) usato quale conservante è tossico se ingerito. L'azoturo di sodio è presente nella compressa di substrato di solido rosso in una concentrazione minima pari allo 0,1%.
3. Usare sempre la compressa di substrato di solido rosso in un'area ben ventilata come sotto ad una cappa d'aspirazione.

MARCHIO COMMERCIALE

Clearmount™, Histomount™, Histostain™ e Zymed® sono marchi commerciali di proprietà di Zymed® Laboratories, Inc.

Rappresentante Autorizzato per IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd., Inchinnan Business Park, 3 Fountain Drive, Paisley, PA4 9RF, UK

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI002234

(Rev 10/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.

Fast Red-Substratpackung

KAT.- NR. 00-2234

Fast Red-Substratpackung

Alkalisches Phosphatasesubstratchromogen für Gewebefärbung

Die Fast Red-Substratpackung ist ein Substratchromogensystem für alkalisches Phosphatase-Immunohistostaining von Gewebe und Zellen.

REAGENZIEREN & MITGELIEFERTER MATERIALIEN

1. 12 Fast Red-Chromogentabletten
2. 12 Röhrchen mit Fast Red-Substratpuffer (5 mL Naphthol AS-MX Phosphat in Tris-HCl-Puffer)

AUFBEWAHRUNG & HANDHABUNG

Bei 2-8°C aufbewahren.

STABILITÄT

Bei ordnungsgemäßer Aufbewahrung besteht keine signifikante Leistungseinbuße. Alle anderen als die angegebenen Aufbewahrungsbedingungen müssen vom Benutzer validiert werden.

GEBRAUCHSANLEITUNG

1. Eine Fast Red-Tablette in einem Röhrchen mit 5 mL Puffer auflösen. Das Chromogen muss innerhalb einer Stunde verwendet werden.
2. Vortexen bis die Tablette aufgelöst ist.
3. 100 µL oder mehr Fast Red-Substratchromogenlösung auftragen, um den Gewebeschnitt vollständig zu bedecken. Bei Raumtemperatur mindestens 10 Minuten warten, bis sich die Farbe entwickelt.
4. Gründlich mit destilliertem Wasser spülen. Fast Red ist alkohollöslich, die Gewebe nach dem Färben NICHT dehydratieren.
5. Die entsprechende Gegenfärbung für maximalen Kontrast auftragen (siehe nicht mitgelieferte Materialien).
6. Den Mikroskop-Objektträger mit GVA oder Clearmount™ Mounting Medien aufziehen.

ERWARTETES IMMUNOSTAINING

Fast Red wird bei Anwesenheit von alkalischer Phosphatase eine leuchtend rote positive Färbung erzeugen. Die Immunostaining-Qualität reflektiert die Auswirkungen der Gewebepreparation sowie der Antigen-Konzentration.

FEHLERBEHEBUNG

Mögliche Ursachen für eine negative Färbung auf positiven Objektträgern:

1. Die Reihenfolge der Schritte des Färbungsprotokolls wurde nicht eingehalten.
2. Die Inkubationsschritte für den primären oder sekundären Antikörper wurden ausgelassen.
3. Labile Antigene wurden zerstört.
4. Die Probe wurde nicht richtig fixiert und/oder verarbeitet.
5. Die Probe trocknete während der Färbung aus.

Mögliche Ursachen für eine schwache Färbung auf allen Objektträgern:

1. Nach der Spülung blieb zuviel Flüssigkeit in der Probe zurück.
2. Die Inkubationszeiten waren nicht ausreichend.
3. Das Substrat wurde falsch vorbereitet.
4. Unvollständige Deparaffinierung (Färbung ist von einer starken Hintergrundfärbung begleitet).

Mögliche Ursachen für starke Hintergrundfärbung:

1. Endogene Peroxidase-Aktivität wurde unvollständig blockiert.
2. Unvollständige Deparaffinierung.
3. Übermäßiger Gebrauch von Gewebefixierungsmittel.
4. Unzureichende Spülung der Objektträger.
5. Überentwicklung des Substrats.
6. Dehydrierung der Probe während der Färbung.

LEISTUNGSGRENZEN

Um ordnungsgemäße Ergebnisse zu erzielen, muss das Gewebe vor dem Immunostaining angemessen gehandhabt und verarbeitet werden. Unsachgemäße Verfahren können auf Grund von Antigendiffusion oder nicht-spezifischer Chargeninteraktion zu falschen positiven Ergebnissen führen. Weiterhin kann ein unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erwärmen, Sektionieren oder die Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten Artefakte, Antikörpereinschluss oder falsche negative Ergebnisse zur Folge haben. Nicht konsistente Ergebnisse können durch Variationen der Fixierungs- und Einbettungsmethoden bzw. durch Unregelmäßigkeiten der Gewebeprobe selbst verursacht werden. Bei ungewöhnlichen Ergebnissen des Immunostaining von Gewebeproben bittet Invitrogen darum, diese dem Technical Service Department.

SICHERHEIT & VORSICHTSHINWEISE

1. Das Fast Red-Chromogen ist als potenzielles Karzinogen klassifiziert und kann bei Kontakt zu Hautreizungen führen. Einen Hautkontakt vermeiden, im Falle eines versehentlichen Kontakts jedoch mit reichlich Wasser abspülen.
2. Das als Konservierungsmittel verwendete Natriumazid (NaN_3) ist toxisch, wenn eingenommen. Die Natriumazid-Konzentration in der Fast Red-Substratpackung beträgt minimale Mengen von 0,1%.
3. Die Fast Red-Substratpackung immer in einem gut belüfteten Bereich wie unter einem Dunstabzug verwenden.

MARKE

Clearmount™, Histomount™, Histostain™, Zymed® sind Marken von Zymed® Laboratories, Inc.

Bevollmächtigter Repräsentant für IVDD 98/79/EC: Invitrogen Ltd., Inchinnan Business Park, 3 Fountain Drive, Paisley, PA4 9RF, UK

www.invitrogen.com

Invitrogen Corporation • 542 Flynn Rd • Camarillo • CA 93012 • Tel: 800.955.6288 • E-mail: techsupport@invitrogen.com

PI002234

(Rev 10/08) DCC-08-1089

© 2007 Invitrogen Corporation. All right reserved. These products may be covered by one or more Limited Use Label Licenses (see the Invitrogen Catalog or www.invitrogen.com). By use of these products you accept the terms and conditions of all applicable Limited Use Label Licenses.