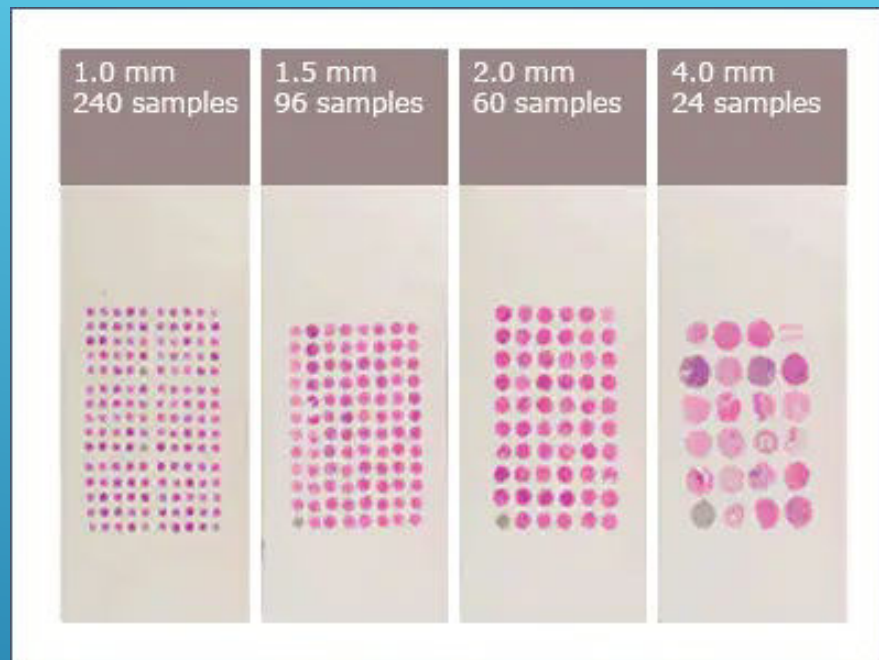


FREMSTILLING AF TMA BLOKKE VHA AGAROSE

billigt og simpelt

AS-410 ERFA-møde 10 maj 2023

v/ Lisbeth Frederiksen, Klinisk Patologi Næstved



Tissue Micro array



Microarrays **2014**, *3*, 103–136; doi:10.3390/microarrays3020103

OPEN ACCESS

microarrays

ISSN 2076-3905

www.mdpi.com/journal/microarrays

Review

Overview on Techniques to Construct Tissue Arrays with Special Emphasis on Tissue Microarrays

Ulrich Vogel

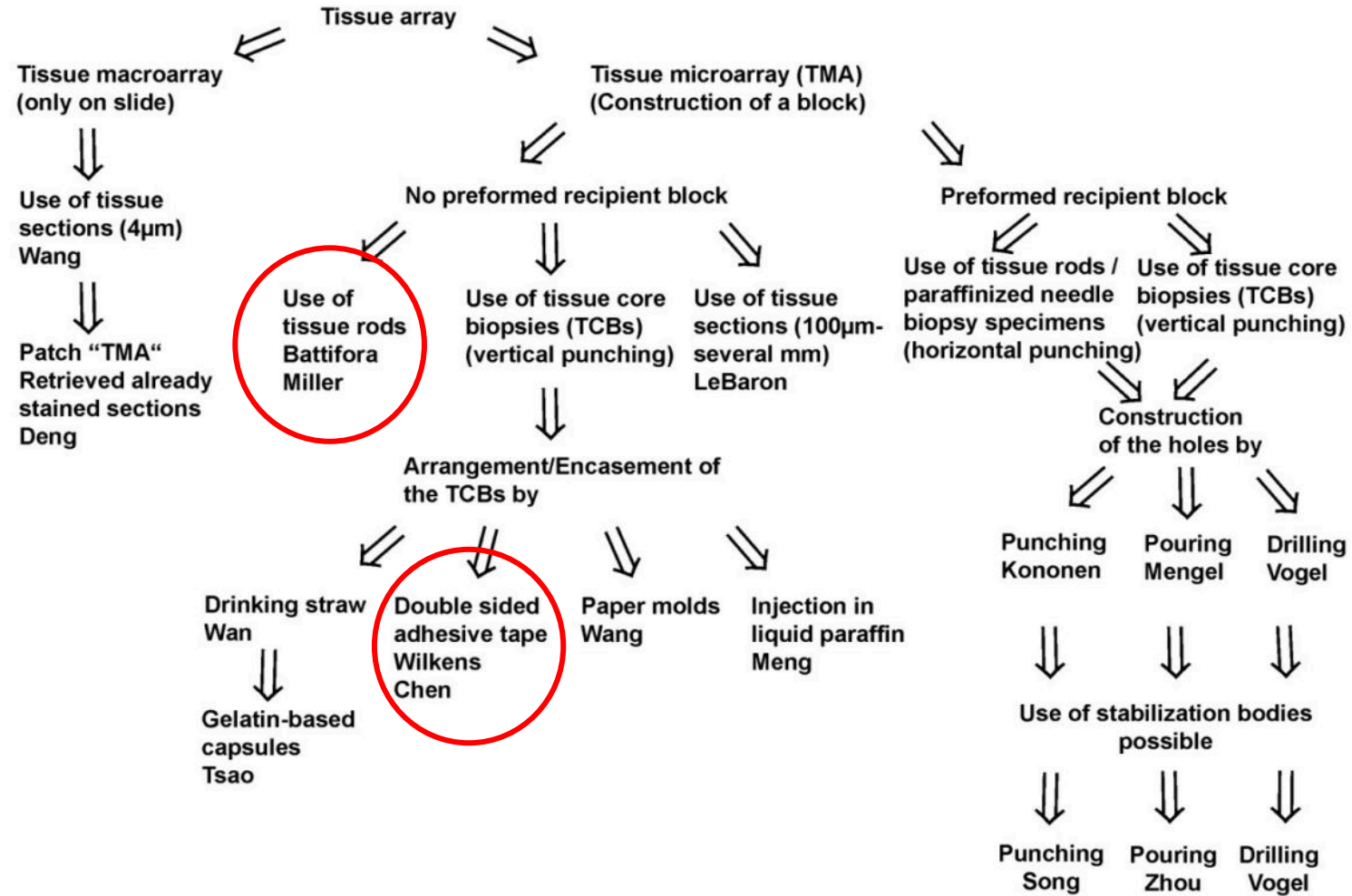
Institute of Pathology, University Hospital, Eberhard-Karls-University, Liebermeisterstrasse 8,
72076 Tuebingen, Germany; E-Mail: ulrich.vogel@med.uni-tuebingen.de;
Tel.: +49-7071-29-82265; Fax: +49-7071-29-2258

Received: 9 January 2014; in revised form: 28 March 2014 / Accepted: 9 April 2014 /

Published: 17 April 2014

Abstract: With the advent of new histopathological staining techniques (histochemistry, immunohistochemistry, *in situ* hybridization) and the discovery of thousands of new genes,

Figure 1. Schematic overview on techniques to construct tissue arrays.





Quick-RAY
Størrelser: 1, 2, 3, 5 mm



Array molds + biopsy punch
Størrelser: 1, 1½, 2, 3, 4 mm



TMA Grand Master

Størrelser: 0,6 mm, 1 mm, 1½ mm, 2 mm

Donor: 71

ARTICLE

An Agarose Matrix Facilitates Sectioning of Tissue Microarray Blocks

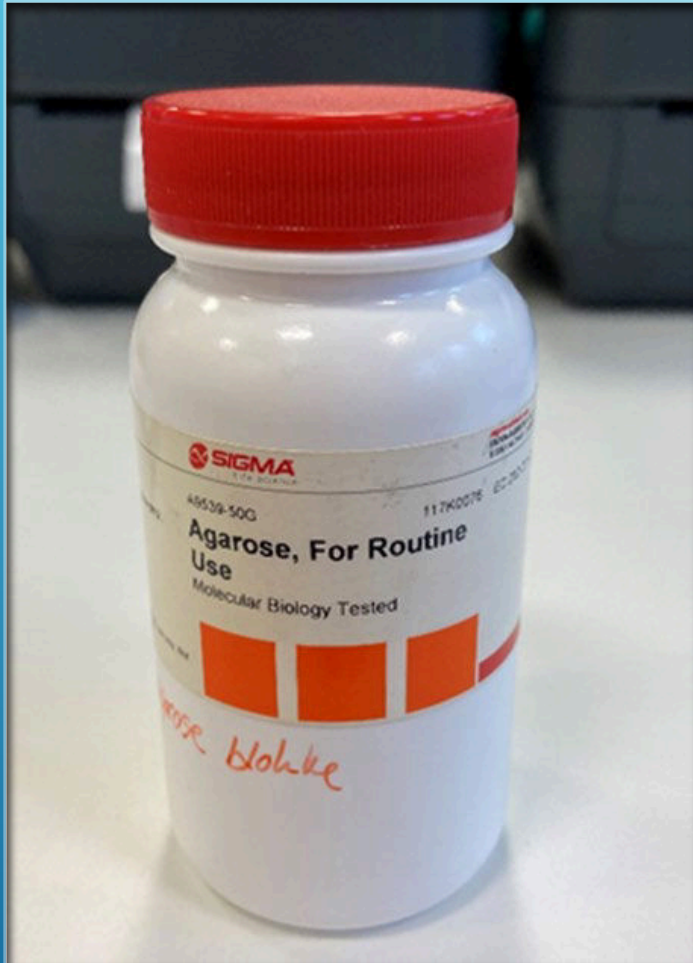
Pu Yan, Walter Seelentag, Astrid Bachmann, and Fred T. Bosman

Institut de Pathologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne, Switzerland

SUMMARY Tissue microarray (TMA) is a powerful, high-throughput technique for in situ investigation of biomarkers in many tissue samples in a paraffin block by immunohistochemistry or fluorescence in situ hybridization (FISH), and has rapidly become the standard in marker studies. One of the difficult steps in the procedure is the sectioning of array blocks and mounting of sections using special slides and/or adhesive-coated tape, which demands specific experience and is time-consuming. We report an arraying method that allows melting of the receiving paraffin block and subsequent sectioning like any ordinary paraffin-embedded tissue block. The major difference from the standard microarray technique is the use of an agarose matrix in the recipient block. The agarose matrix allows melting of the paraffin without disturbing the array, resulting in perfect integration of the tissue cores. The agarose-paraffin TMA blocks limit tissue core loss during cutting, mounting, or immunohistochemical or FISH staining and better maintains the array. (*J Histochem Cytochem* 55:21–24, 2007)

KEY WORDS

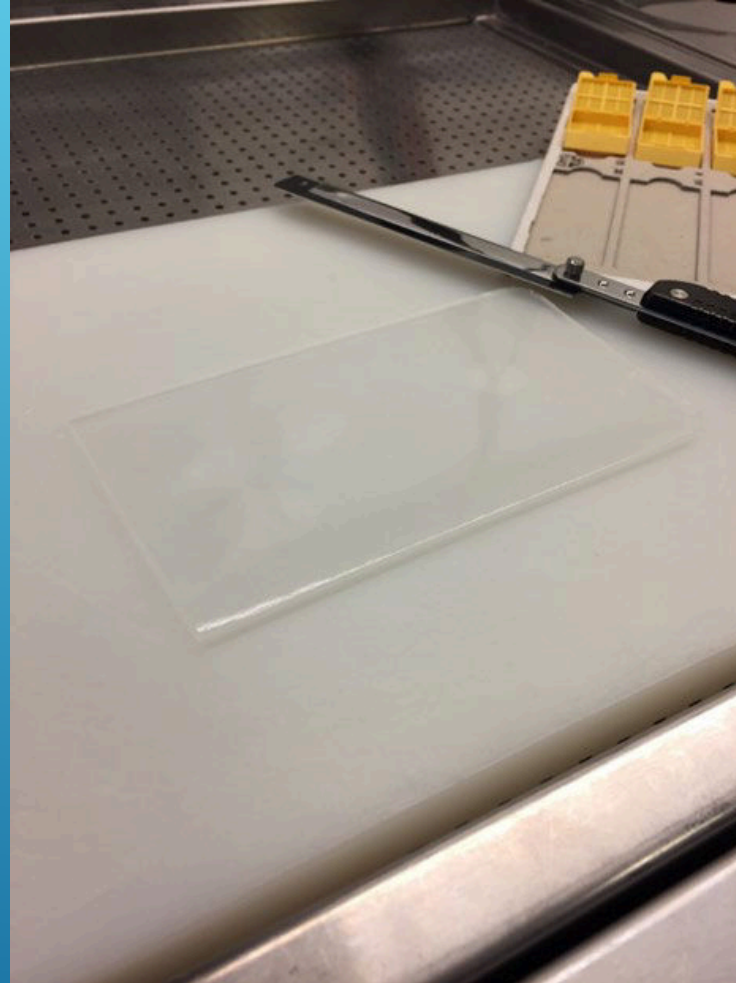
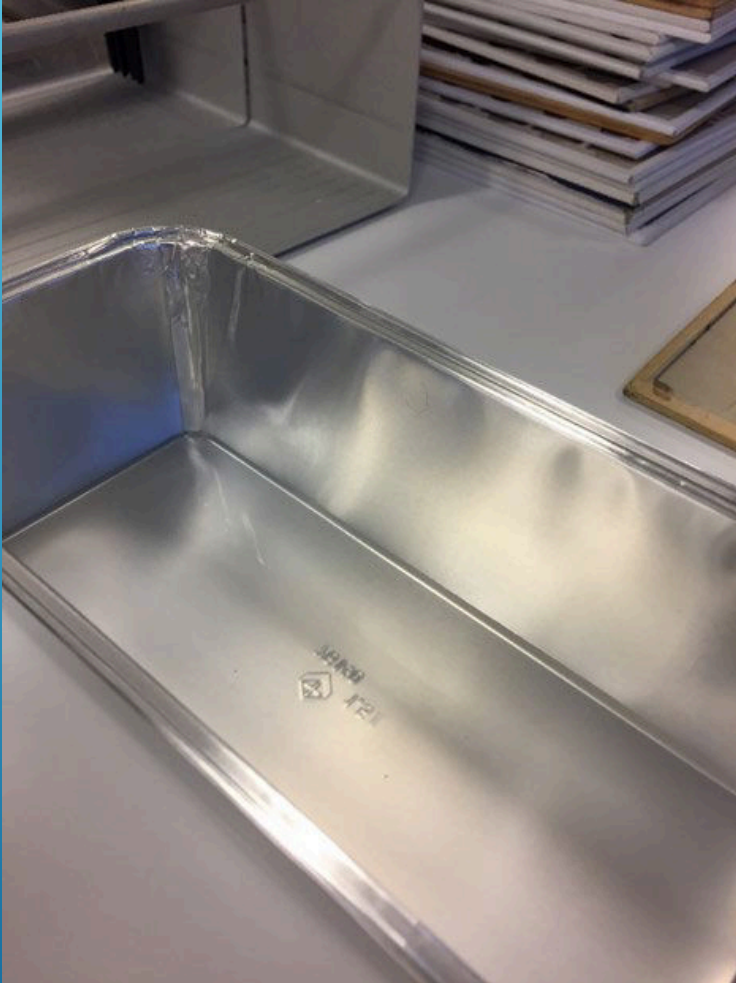
tissue microarray
agarose-paraffin block
immunohistochemistry



Der fremstilles en 2 % agarose opløsning i dest. vand

Opløsningen varmes på omrører til agarosen er klar/opløst,

eller i MBO 3 x 30 sekunder til opløsningen er klar/opløst.



Agaroseopløsningen hældes i foliebakker eller anden plan form, gerne således at agarosepladen har en højde af ca. 4-5 mm

(jo højere agarosepladen er, desto højere bliver core-brønden til selve donor-coren, og den får derved sværere ved at "flyde" op under indstøbningen)

Foreslået procedure:

Agarosen størkner ved stuetemp
Derefter Dehydrering:

30 % ethanol 3 h

50% ethanol 3 h

70 % ethanol 3 h

80 % ethanol 3 h

95 % ethanol 3 h

100 % ethanol 3 h

100 % ethanol 3 h

Xylen 2 h

Xylen 2 h

Xylen 2 h

Paraffin v 60 °C 1 h

Paraffin v 60 °C 1 h

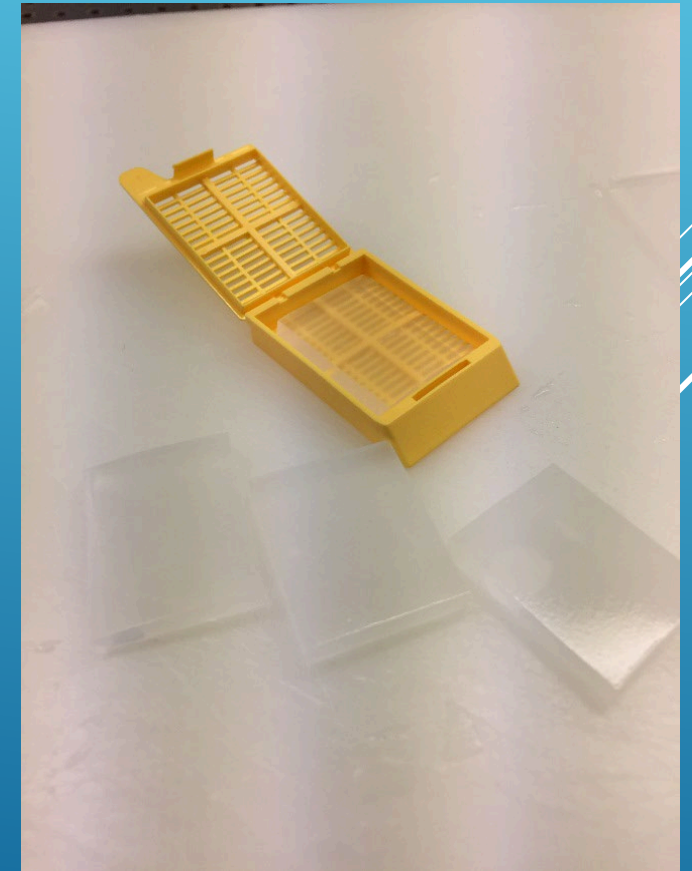
Paraffin v 60 °C 1 h

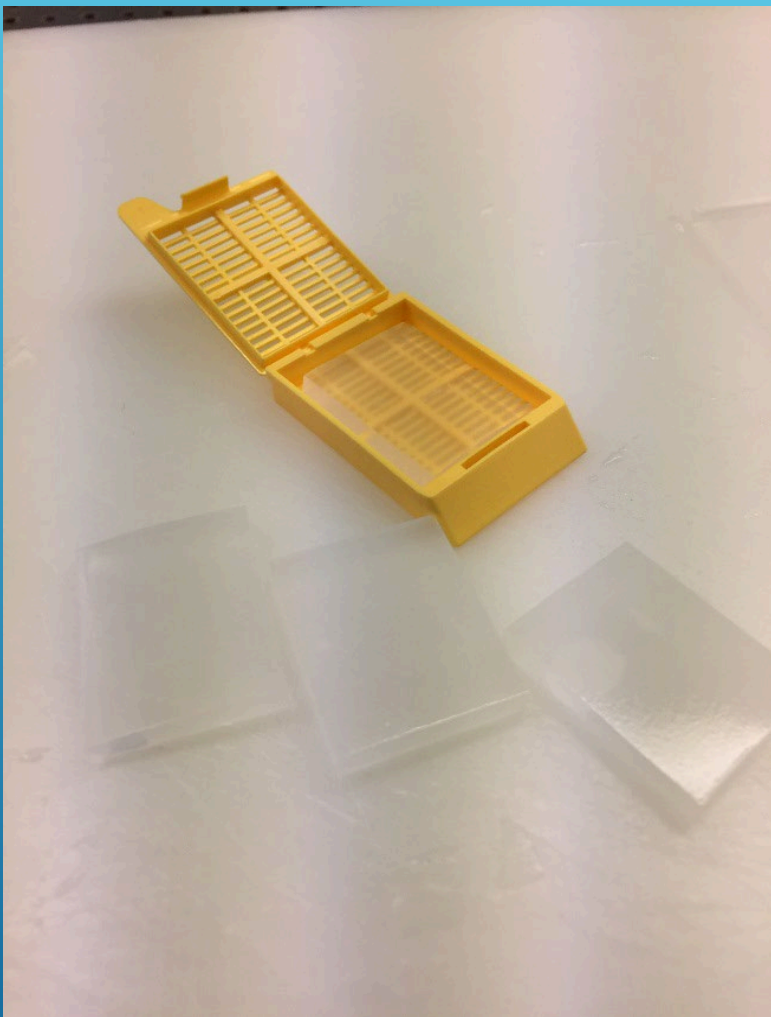
Paraffin v 60 °C 1 h

Anvendt procedure:

Agarosen størkner ved stuetemp
Skæres i passende stykker

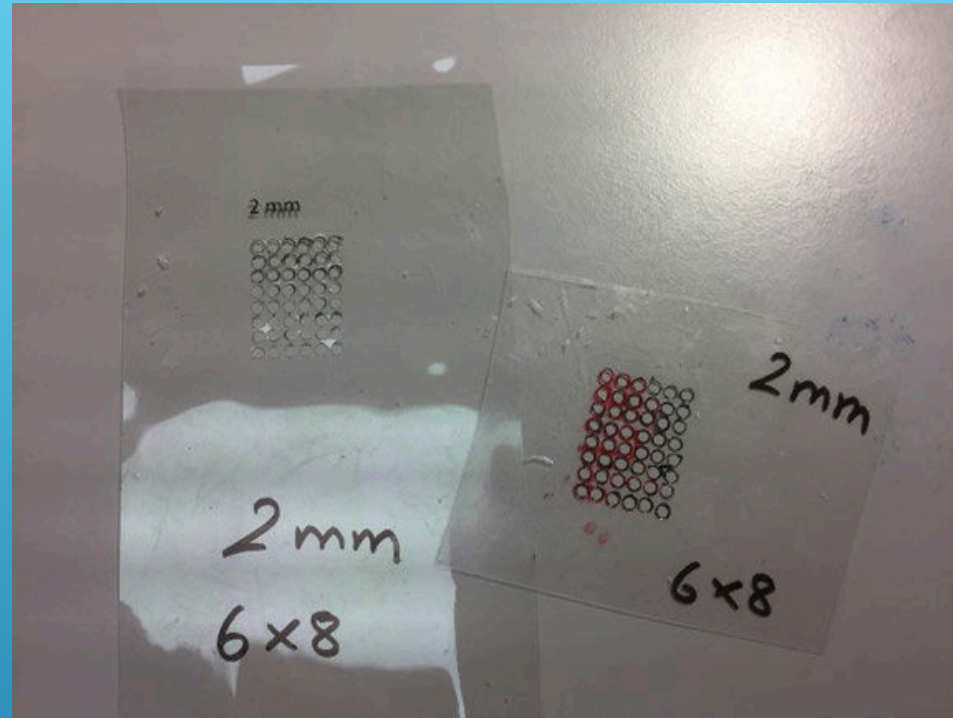
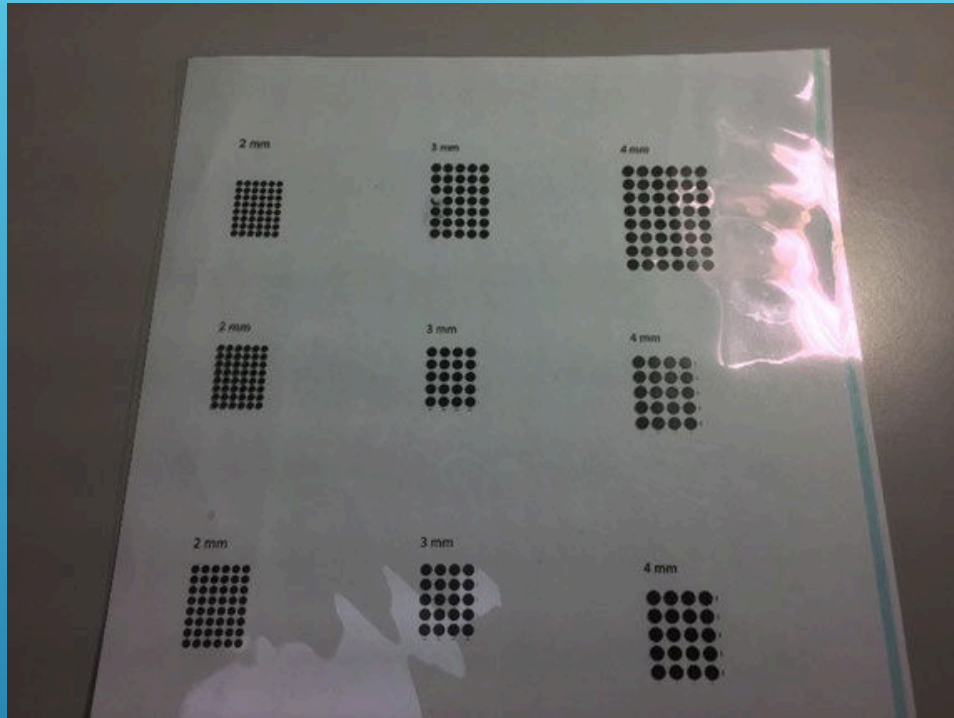
Kapslerne med agarose kommes i
neutral buffet formalin
og kører en almindelig
vævsprocedering natten over.





Den størknede agar skæres ud i passende størrelse sv.t. den størrelse TMA man gerne vil fremstille.

Efter vævsprocedering trimmes blokken



Prikker printet på et ark til overhead-projektor, disse prikker kan bruges som skabelon til at få placeret core'rne i pæne lige linjer.

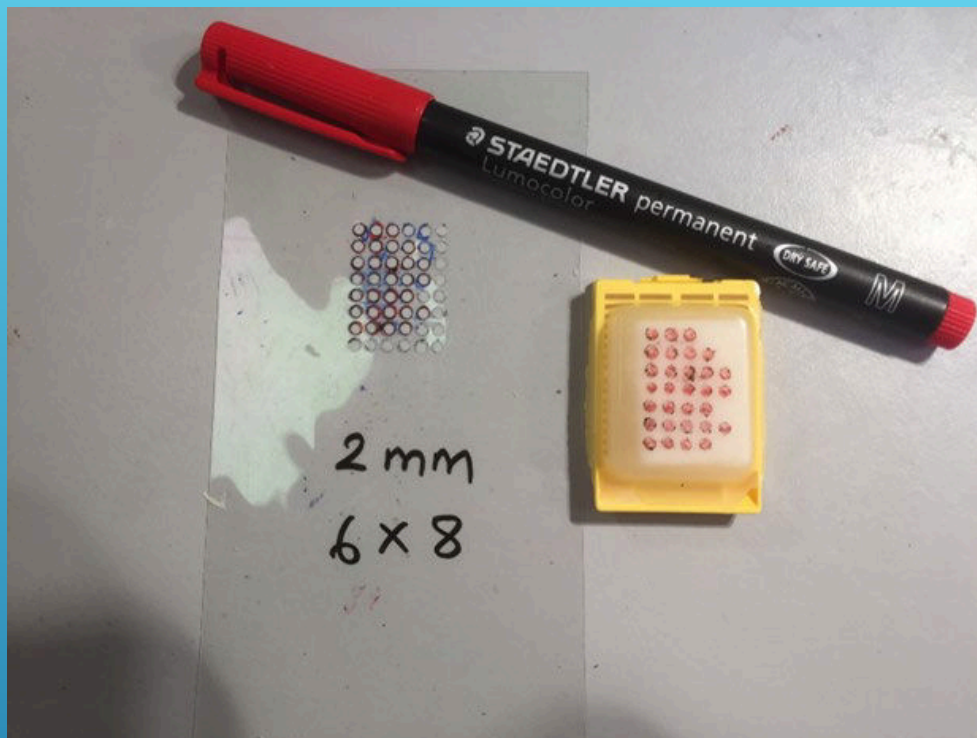
Prikkerne prikkes ud med en stansebiopsi, således at man har en skabelon til at tegne igennem hullerne direkte på modtage-blokken med den indstøbte agarose.



Forskellige størrelser hudstanser + jern til at trykke coren ud af stanseren med. 1, 1½, 2, 3, 4...8 mm
Fås med og uden stempel.

Jernet er et stykke bøjet rundjern, venligst bøjet af teknisk afd.





Man kan tegne igennem hullerne med tusch direkte på agarpladen.

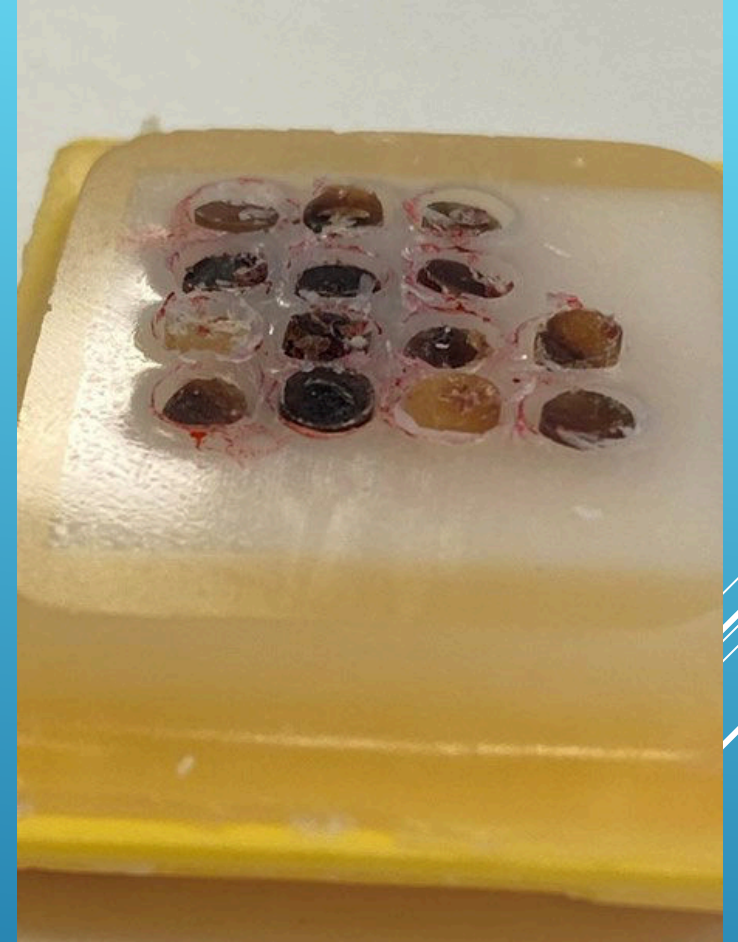
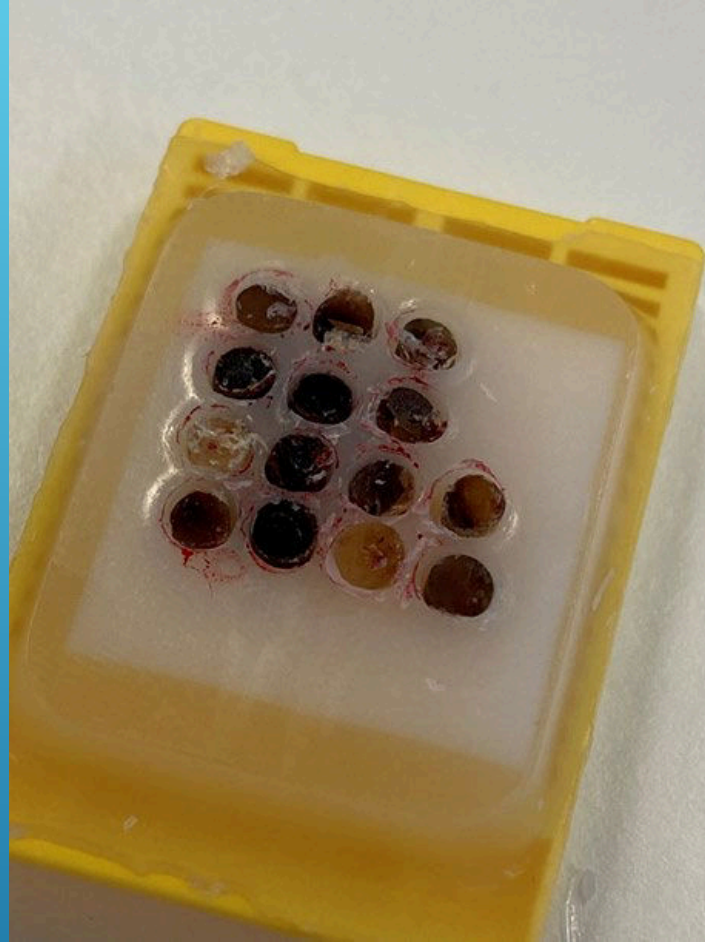
Permanent tusch størrelse medium anbefales.

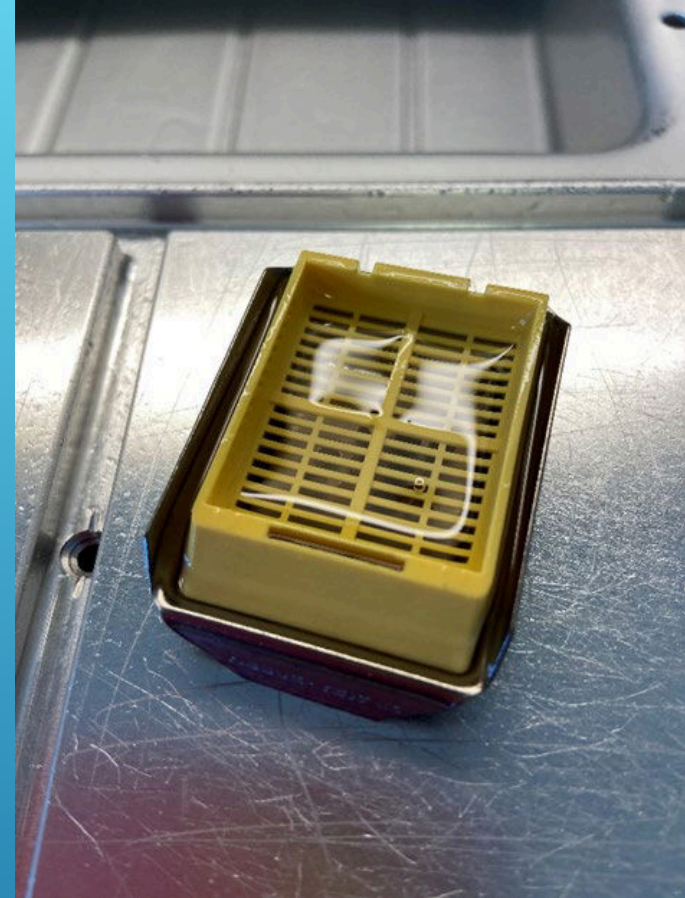
Prikkerne stanses ud med en udstanser. Man kan prikke ud i flere størrelser i samme agarplade (2 mm/3mm/4mm) og man kan selv designe i hvilket mønster prikkerne skal stanses ud, der skal dog være lidt paraffin mellem hullerne da der er lidt pres på omgivende paraffin/væv når man stanser huller/brønde.

Når donor-vævet skal sættes i modtage-blokken skal man vælge samme størrelse stanse svarende til den der er stanset ud med. Det er vigtigt at vævet er presset godt ned i brønden – da det kan finde på at "svømme" op igen under indstøbningen.

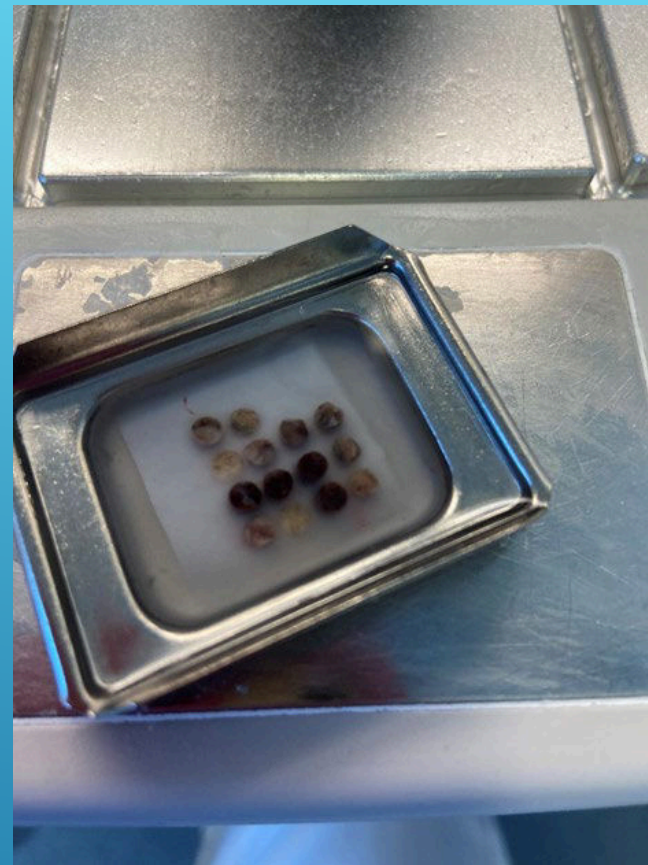
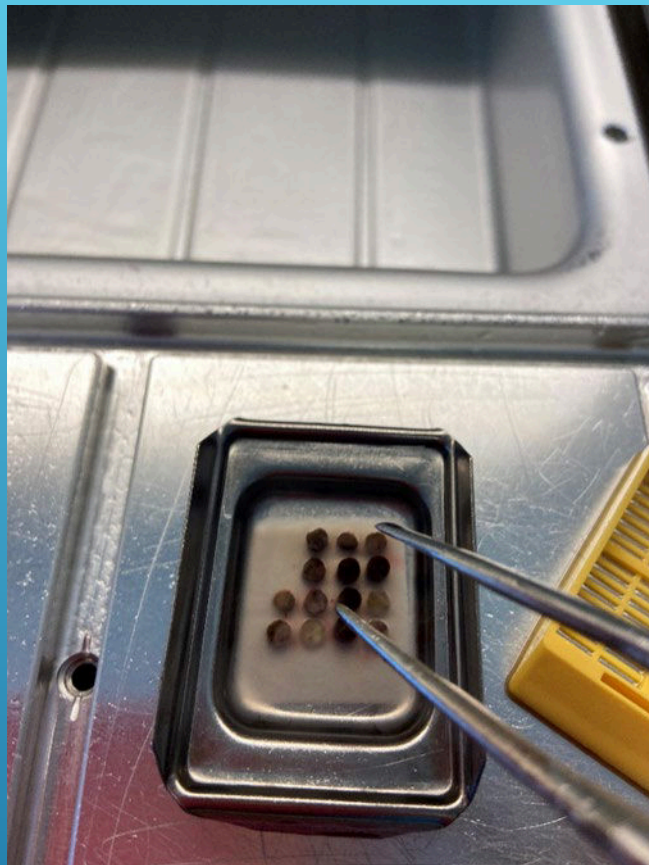
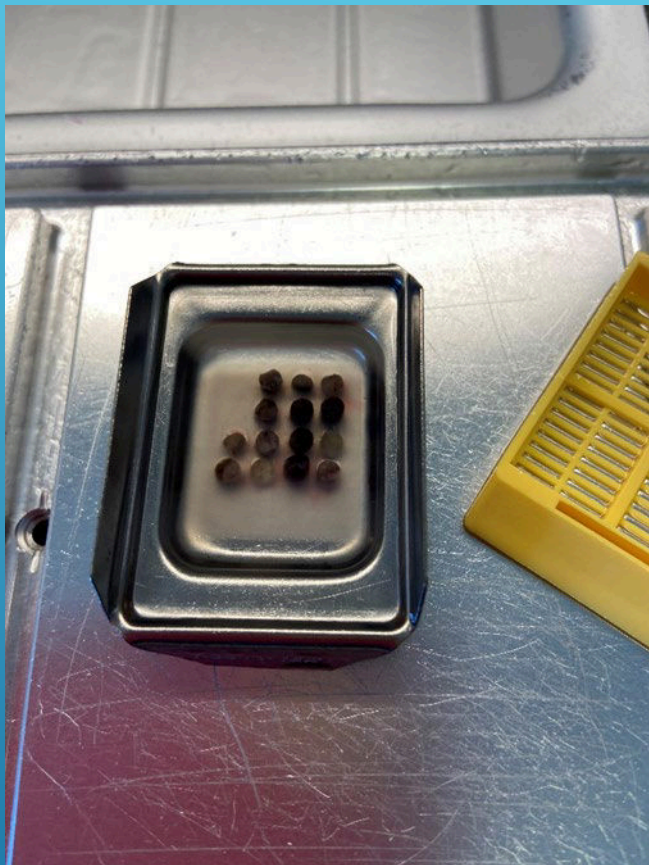
Sæt herefter cores i brøndene.
Jeg laver et skema over
hvordan jeg vil have placeret
mine donor-cores og sætter
dem ned svarende til skemaet.

Ved placering af donor-coren i
brønden: forsøg at have bunden
af coren plan med overfladen
på donorblokken.
Det er ikke altid at corerne er
lige høje, da væv har forskellige
tykkelse; derfor forsøger jeg at
have dem plane med
overfladen.

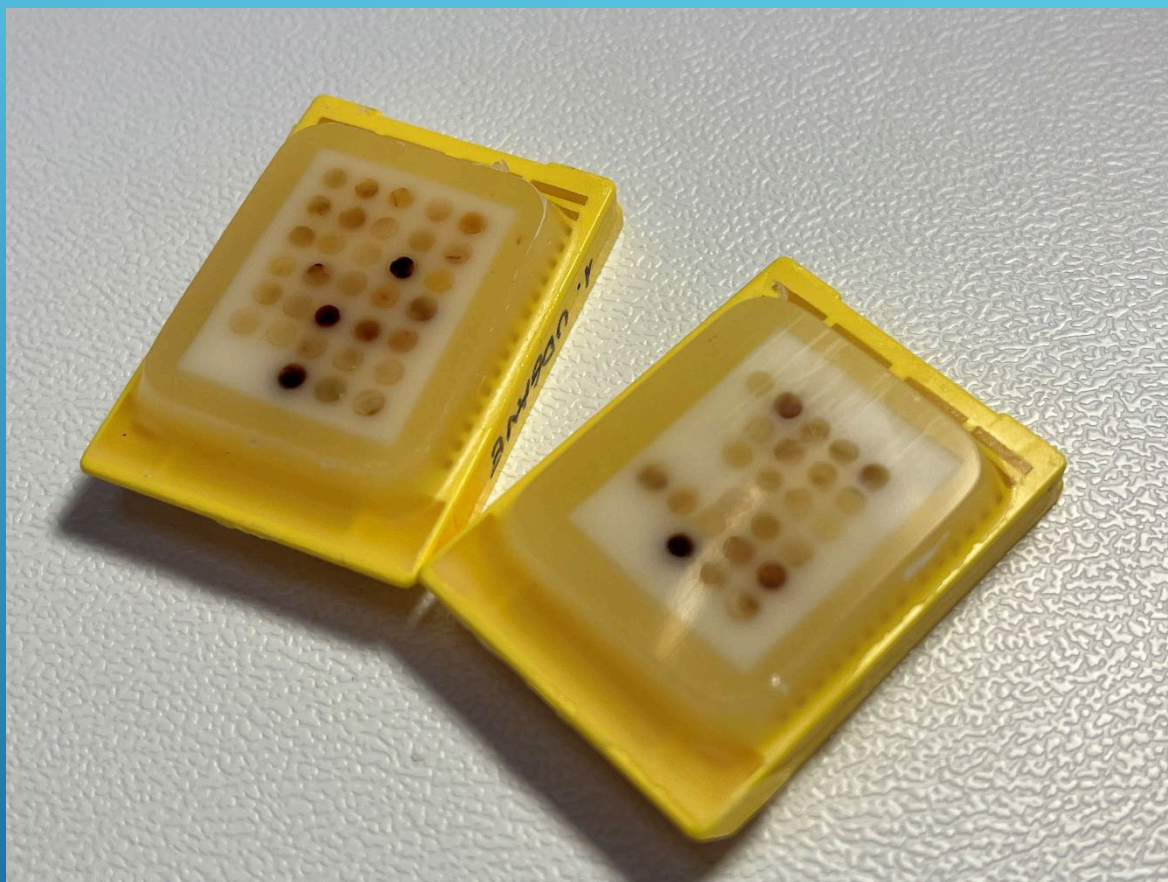




Agaroseblokken med alle donorcorene sættes på indstøbningspladen og er klar når al paraffin er smeltet.



Ved indstøbning trykkes alle donorcorerne ned i brøndene.



TMA kan tilmed skæres på AS-410