

WT1 (6F-H2) Mouse Monoclonal Antibody

K použití v diagnostice in vitro (IVD)

Identifikace produktu

REF	Popis
348M-94	0,1 ml koncentrát
348M-95	0,5 ml koncentrát
348M-96	1,0 ml koncentrát
348M-97	1,0 ml předředěný připravený k použití
348M-98	7,0 ml předředěný připravený k použití
348M-90	25,0 ml předředěný připravený k použití

Definice symbolů

KEY-CODE	kód
P	předředěný přípravek
C	koncentrát
A	ascites
E	sérum
S	supernatant
DIL	rozsah ředění koncentráту

Určené použití

Tato protilátka je určena pro diagnostiku *in vitro* (IVD).

Myší monoklonální primární protilátka pro WT1 (6F-H2) je určena pro laboratorní použití při detekci proteinu WT1 v tkáni fixované formalinem a zalité v parafínu, která je barvena pro kvalitativní imunohistochemické (IHC) testování.

Výsledky použití tohoto produktu musí být interpretovány kvalifikovaným patologem ve spojení s relevantní klinickou anamnézou pacienta, dalšími diagnostickými testy a příslušnými kontrolami.

Souhrn a vysvětlení

Protein Wilmsova tumoru 1 (WT1) je transkripční faktor typu zinkových prstů, který je normálně exprimován v tkáních mezodermálního původu.¹ Gen Wilmsova tumoru kóduje protein s tumor-supresorovou funkcí v lidském chromozomu 11p13.² Jaderná imunoreaktivita WT1 byla pozorovaná s vysokými četnostmi v několika typech mezodermálně odvozených

nádorů včetně epiteloidního mezoteliomu a serózního nádoru vaječníků, takže se používá jako marker těchto neoplazií.^{2,3,6}

Principy a postupy

Uvedená primární protilátka se používá jako primární protilátka při imunohistochemickém barvení tkáňových řezů fixovaných formalinem a zalitých v parafínu. Imunohistochemické barvení ve spojení s detekčním systémem s navázanou křenovou peroxidázou a alkalickou fosfatázou obecně umožňuje vizualizaci antigenů prostřednictvím sekvenční aplikace konkrétní protilátky (primární protilátka) proti antigenu, sekundární protilátky (spojovací protilátka) proti primární protilátce, komplexu enzymů a chromogenního substrátu, která je proložena promývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu vede k viditelnému reakčnímu produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být kontrastně obarven a zakryt krycím sklíčkem. Výsledky se interpretují pomocí světelného mikroskopu.

Materiály a metody

Dodávaná činidla

Složení výrobku	
Předředěný přípravek: naředěn v	Tlumivém roztoku Tris, pH 7,3 - 7,7, s 1% BSA a < 0,1% azidem sodným
Koncentrát: naředěn v	Tlumivém roztoku Tris, pH 7,3 - 7,7, s 1% BSA a < 0,1% azidem sodným
Hostitel	Myší
Izotyp	IgG ₁ /k
Doporučený rozsah pracovního ředění	1:100-1:500
Zdroj	supernatant

Štítek výrobku obsahuje následující informace o šarži:

1. Koncentraci imunoglobulinu v protilátce
2. Podrobnosti o zdroji

Rekonstituce, smísení, ředění nebo titrace

Předředěná protilátka je připravena k použití a optimalizována k barvení. Není vyžadována rekonstituce, smísení, ředění nebo titrace. Koncentrovaná protilátka je optimalizována pro ředění v rozsahu ředění pomocí ředidla Cell Marque Diamond: Antibody Diluent.

Potřebné nedodávané materiály a činidla

Následující činidla a materiály mohou být potřebné pro barvení, ale nejsou dodány současně s primární protilátkou:

1. Pozitivní a negativní kontrolní vzorek tkáně
2. Mikroskopická sklíčka, s pozitivním nábojem
3. Sušicí pec schopná udržovat teplotu 53 - 65 °C

4. Barvicí misky nebo lázně

5. Stopky

6. Xylen nebo substituty xylenu

7. Etanol nebo jiný alkohol

Poznámka: Jednostupňové přípravné činidlo Cell Marque, Trilogy™ (kat. č. 920P-06), může nahradit kroky 6 a 7 výše.

8. Deionizovaná nebo destilovaná voda

9. Zahřívací aparatura, např. elektrický tlakový vařič pro předběžné zpracování tkáně

10. Detekční systém, např. HiDef Detection™ HRP Polymer System (kat. č. 954D-20) nebo HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (kat. č. 962D-20)

11. Chromogen, např. DAB Substrate Kit (kat. č. 957D-20) nebo Permanent Red Chromogen Kit (kat. č. 960D-10)

12. TBS IHC Wash Buffer + Tween** 20 (kat. č. 935B-09)

13. Hematoxylin nebo jiné doplňkové barvivo

14. Ředidla protiláték, např. Diamond: Antibody Diluent (kat. č. 938B-05) nebo Emerald: Antibody Diluent (kat. č. 936B-08)

15. Peroxide Block (kat. č. 925B-05) pro použití s HRP

16. Avidin-Biotin Blocking Reagents pro použití s detekcí streptavidin-biotin

17. Negativní Kontrolní Činidlo (kat. č. 939B-02 pro univerzální)

18. Mounting Medium

19. Krycí sklíčko

20. Světelný mikroskop (40-400x)

Skladování a zacházení

Skladujte při 2 - 8 °C. Nezmrazujte.

Aby byl zajištěn správný výkon činidla a stabilita protilátky, musí se lahvička po každém použití uzavřít víčkem a okamžitě umístit ve vertikální poloze do chladničky.

Každé činidlo s protilátkou má stanovenou dobu expirace. Je-li řádně skladováno, je činidlo stabilní do data uvedeného na štítku. Nepoužívejte činidla po uplynutí expirační doby pro předepsanou metodu skladování.

Tento produkt nejeví žádné známky indikující nestabilitu, proto by se současně s testováním neznámých vzorků měly provádět testy s pozitivními i negativními kontrolními vzorky. V případě podezřelých známek nestability činidla se obraťte na technickou podporu společnosti Cell Marque.

Sběr vzorků a příprava pro analýzu

Pro použití této primární protilátky s detekčními soupravami Cell Marque (viz Potřebné materiály a činidla, která se nedodávají) jsou vhodné tkáně zpracované běžným způsobem, fixované v neutrálním pufovaném formalínu a zalité v parafínu. Poznámka: Společnost Cell Marque hodnotí výsledky pouze na lidských tkáních. Doporučené vhodné fixativum je 10% neutrální pufovaný formalin. V důsledku delší fixace nebo speciálních procesů, jako např. dekalcifikace preparátů kostní dřeně, mohou být získány variabilní výsledky.

Každý řez je třeba nařezat na správnou tloušťku (asi 3 µm) a umístit na pozitivně nabitě podložní sklíčko. Sklíčka obsahující řezy tkání je třeba sušit po dobu nejméně 2 hodin (avšak ne déle než 24 hodin) při teplotě 53 až 65 °C.

Upozornění a bezpečnostní předpisy

- Při zacházení s činidly buďte opatrní. Používejte jednorázové rukavice a laboratorní pláště při manipulaci s podezřelými karcinogenními nebo jedovatými materiály (například: xylen).
- Vyvarujte se kontaktu činidel s očima nebo sliznicemi. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
- Se vzorky pacientů a všemi materiály, které s nimi přišly do styku, je třeba zacházet jako s biologicky nebezpečnými materiály a zneškodňovat je podle správných opatření. Nikdy nepipetujte ústy.
- Vyvarujte se mikrobiologické kontaminaci činidel, protože by to mohlo způsobit nesprávné výsledky.
- Uživatel musí validovat inkubační doby a teploty.
- Předředěná činidla připravená k použití jsou optimálně zředěna a další ředění může vést ke ztrátě barvení antigenu.
- Konzentrovaná činidla mohou být optimálně zředěna po ověření uživatelem. Jakékoli použité ředící činidlo, které není výslovně doporučeno v tomto dokumentu, musí být uživatelem validováno, aby se ověřila jeho kompatibilita a vliv na stabilitu.
- Při použití v souladu s pokyny není tento přípravek klasifikován jako nebezpečná látka. Konzervační látkou v činidle je azid sodný s koncentrací nižší než 0,1 %, který při uvedené koncentraci nenaplní kritéria OSHA (USA) pro nebezpečnou látku. Viz bezpečnostní list.
- Uživatel musí ověřit jakékoli skladovací podmínky, které jsou jiné, než je uvedeno v příbalovém letáku.
- Ředící roztok může obsahovat bovinní sérový albumin a supernatant může obsahovat bovinní sérum. Přípravky obsahující fetální bovinní sérum a přípravky obsahující bovinní sérový albumin jsou kupovány od komerčních dodavatelů. Certifikáty původu pro zvířecí zdroje použité v těchto přípravcích jsou uloženy ve společnosti Cell Marque. Tyto certifikáty dokládají, že zdroj bovinních přípravků je ze země se zanedbatelným rizikem BSE a uvádějí zdroje bovinních přípravků z USA a Kanady.
- Stejně jako v případě jiných produktů odvozených z biologických zdrojů je třeba používat správné postupy zacházení.

Návod k použití

Doporučené barvicí protokoly pro uvedenou primární protilátku:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (kat. č. 954D-20)

- Technika zpřístupnění epitopu: HIER, Reagencie pro zpřístupnění epitopu: Trilogy
- Inkubační doba Protilátka (minuty): 10-30
- Inkubační doba HiDef Detection Amplifier (minuty): 10
- Inkubační doba HiDef Detection Polymer Detector (minuty): 10
- Inkubační doba DAB (minuty): 1-10
- Dehydratujte a zakryjte sklíčkem.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (kat. č. 962D-20)

- Technika zpřístupnění epitopu: HIER, Reagencie pro zpřístupnění epitopu: Trilogy

- Inkubační doba Protilátka (minuty): 10-30
- Inkubační doba HiDef Detection Amplifier (minuty): 10
- Inkubační doba HiDef Detection Polymer Detector (minuty): 10
- Inkubační doba Permanent Red (minuty): 15-30
- Inkubační doba Dehydratujte a zakryjte sklíčkem.

Postupy kontroly kvality

Pozitivní kontrolní vzorek tkáně

Při každém provedeném barvicím postupu je třeba použít i pozitivní kontrolní vzorek tkáně. Tkáň může obsahovat pozitivně i negativně zbarvené buňky nebo části tkáně a slouží jako pozitivní i negativní kontrolní vzorek tkáně. Kontrolní vzorky by měly být čerstvé vzorky z pitvy, biopsie nebo operace připravené nebo fixované co nejdříve a zalité stejným způsobem jako testovaný vzorek. Použití tkáňového řezu fixovaného nebo zpracovaného jiným způsobem než testovaný vzorek zajistí kontrolu pro všechna činidla a kroky metody kromě fixace a zpracování tkáně.

Tkáň se slabým pozitivním zbarvením je pro optimální kontrolu kvality a pro detekci i malé degradace činidla vhodnější. Pozitivní tkáňová kontrola pro uvedenou primární protilátku může zahrnovat následující:

Pozitivní kontrolní vzorek tkáně	
Tkáň	Vizualizace
Serózní nádor vaječníků	Jaderná
Mezoteliom	Jaderná
Ledviny	Jaderná
Varle	Jaderná

Známé pozitivní kontrolní tkáně by měly být používány pouze ke sledování správné funkce zpracovaných tkání a testových činidel, nikoliv jako pomůcka k formulaci specifické diagnózy vzorků pacientů. Pokud se u pozitivních kontrolních vzorků tkání neprojeví odpovídající pozitivní zbarvení, je nutno považovat výsledky testovacích vzorků za neplatné.

Negativní kontrolní vzorek tkáně

Jako negativní kontrolní vzorek tkáně lze použít stejnou tkáň, která se používá jako pozitivní kontrolní vzorek. Rozmanitost různých typů buněk, které se nacházejí ve většině řezů tkání, nabízí oblasti pro negativní kontrolní vzorky, ale to by měl ověřit uživatel. Části, které se nebarví, by měly prokázat nepřítomnost specifického zbarvení a zajistit indikaci nespecifického zbarvení pozadí. Pokud se projeví specifické zbarvení v částech negativního kontrolního vzorku tkáně, je nutno považovat výsledky vzorků pacienta za neplatné.

Nevysvětlitelné rozdíly

Nevysvětlitelné rozpory u kontrolních vzorků by měly být ihned ohlášeny technické podpoře společnosti Cell Marque. Pokud se výsledky kontrol neshodují se specifikacemi, výsledky pacienta jsou neplatné. Viz část Řešení problémů v tomto letáku. Zjistíte a napravte problém, a pak zopakujte celý postup se vzorky pacienta.

Negativní kontrolní činidlo

K usnadnění interpretace výsledků je třeba provést pro každý vzorek cyklus s negativní kontrolním činidlem. Negativní kontrolní činidlo se používá místo primární protilátky, aby se dalo vyhodnotit nespecifické zbarvení. Krycí sklíčko by mělo být ošetřeno negativním kontrolním činidlem, které odpovídá druhu hostitele primární protilátky a ideálně má stejnou IgG koncentraci. Inkubační doba negativního kontrolního činidla by měla odpovídat inkubační době primární protilátky.

Interpretace výsledků

Proces imunobarvení způsobuje zbarvený reakční produkt, který se vysráží v oblastech antigenu lokalizovaných primární protilátkou. V příbalovém letáku k příslušnému detekčnímu systému naleznete očekávané reakční barvy. Před interpretací výsledků musí pozitivní a negativní kontrolní vzorky vyhodnotit kvalifikovaný patolog se zkušeností s imunohistochemií.

Pozitivní kontrolní vzorek tkáně

Nejprve je nutné provést test zbarveného pozitivního kontrolního vzorku tkáně, a ověřit tak správnost funkce všech reagentů. Přítomnost správně zbarveného reakčního produktu uvnitř cílových buněk indikuje pozitivní reaktivitu. V příbalovém letáku k detekčnímu systému naleznete očekávané reakční barvy. V závislosti na délce inkubační doby a potenci použitého hematoxylinu způsobí kontrastní barvení bleděmodré až tmavomodré zbarvení buněčných jader. Přílišné nebo neúplné kontrastní zbarvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků. Pokud se u pozitivních kontrolních tkání neprojeví příslušné pozitivní zbarvení, je nutno považovat výsledky testovaných vzorků za neplatné.

Negativní kontrolní vzorek tkáně

Negativní kontrolní vzorek tkáně je nutno testovat po pozitivním kontrolním vzorku, abychom ověřili specifitu značení cílového antigenu primární protilátkou. Nepřítomnost specifického zbarvení v negativním kontrolním vzorku potvrzuje nepřítomnost zkřížené reaktivity s buňkami nebo částmi buněk. Pokud se projeví specifické zbarvení v negativním kontrolním vzorku tkáně, je nutno považovat výsledky vzorků pacienta za neplatné. Pokud se vyskytne nespecifické zbarvení, je většinou difúzní. Sporadické slabé zbarvení pojivové tkáně lze také pozorovat v řezech z tkání, které nejsou optimálně fixované. K interpretaci výsledků barvení používejte pouze intaktní buňky. Nekrotické nebo degenerované buňky vykazují nespecifické zbarvení.

Tkáň pacienta

Vzorky pacienta se vyšetřují jako poslední. Intenzitu pozitivního zbarvení je nutno posuzovat v kontextu jakéhokoli zbarvení pozadí negativního kontrolního činidla. Jako u každého imunohistochemického testu, negativní výsledek znamená, že antigen nebyl detekován, nikoli že antigen není v testovaných buňkách nebo tkáni přítomen. Při identifikaci falešných negativních reakcí může pomoci panel protilátek (viz část Souhrn očekávaných výsledků). Ke správné interpretaci každého imunohistochemického výsledku by měla být testována rovněž morfologie každého vzorku tkáně s využitím řezů barvených hematoxylinem a eozinem. Morfologické nálezy pacientů a klinické údaje týkající se pacientů musí interpretovat kvalifikovaný patolog.

Omezení

- Protilátka barva nemá vliv na výkonnost
- Toto činidlo je určeno pouze pro „odborné použití“, protože imunohistochemie je několikakrokový proces, který vyžaduje speciální školení při výběru vhodných činidel,

- tkání, fixace a zpracování, přípravě imunohistochemického sklíčka a interpretaci výsledků barvení.
- Pouze pro laboratorní užití.
 - Pro diagnostiku *in vitro*.
 - Barvení tkáně závisí na zacházení a zpracování tkáně před barvením. Nesprávná fixace, zmrazení, rozmrazení, umývání, sušení, zahřívání, řezání nebo kontaminace jinými tkáněmi nebo tekutinami může vést ke vzniku artefaktů, zachycení protilátek nebo falešně negativním výsledkům. Následkem odchylek při fixaci a metodách zalévání, ale i následkem stávajících nerovnoměrností ve tkáni může docházet k inkonzistentním výsledkům.
 - Přílišné nebo neúplné kontrastní zbarvení může ohrozit správnou interpretaci výsledků.
 - Klinická interpretace jakéhokoli pozitivního zbarvení nebo jeho nepřítomnosti musí být posouzena v kontextu klinické anamnézy, morfologie, dalších histopatologických kritérií a rovněž dalších diagnostických testů. Tato protilátka je určena k použití v panelu protilátek. Je odpovědností kvalifikovaného patologa, aby se seznámil s protilátkami, činidly a metodami používanými k barvení preparátů. Barvení se musí provádět v certifikované laboratoři s příslušným oprávněním a pod dohledem patologa zodpovědného za hodnocení barvených podložních skel a zaručení adekvátnosti pozitivních a negativních kontrolních vzorků.
 - Společnost Cell Marque poskytuje protilátky a činidla v optimálním ředění pro použití podle pokynů. Jakákoli odchylka od doporučených testovacích postupů může způsobit neočekávané výsledky. Je nutno používat a zdokumentovat příslušné kontrolní vzorky. Uživatelé musejí za všech okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.
 - Společnost Cell Marque poskytuje primární protilátky v koncentrované formě, takže je může uživatel následně optimálně zředit pro použití podle určení uživatele a při dodržení vhodných technik validace. Uživatelé musí provést validaci při použití jakýchkoli ředících roztoků jiných, než zde uvedených. Když je primární činidlo validováno jako vhodné, může jakákoli odchylka od doporučených testovacích postupů způsobit neočekávané výsledky. Je nutno používat a zdokumentovat příslušné kontrolní vzorky. Uživatelé musejí za všech okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.
 - Tento přípravek není určen pro průtokovou cytometrii.
 - Činidla mohou prokázat neočekávané reakce na dříve netestovaných tkání. V důsledku biologické variability exprese antigenu v novotvarech nebo jiných patologických tkáních nelze zcela vyloučit možnost neočekávaných reakcí i v testovaných skupinách tkání. S podezřelými zdokumentovanými neočekávanými reakcemi se obraťte na technickou podporu společnosti Cell Marque.
 - Tkáně od osob infikovaných virem hepatitidy B a obsahující povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg) mohou vykazovat nespecifické barvení křenuvým peroxidázou.
 - Při použití v krocích blokování mohou normální séra ze stejného zvířecího zdroje jako sekundární protilátky způsobit falešně negativní nebo falešně pozitivní výsledky vzhledem k účinku autoimunitních protilátek nebo přirozených protilátek.
 - Je možné pozorovat falešně pozitivní výsledky v důsledku neimunologické vazby bílkovin nebo reakčních produktů substrátu. Mohou být také způsobeny aktivitou pseudoperoxidázy (erythrocyty) a endogenní peroxidázy (cytochrome C) nebo endogenním biotinem (příklad: játra, mozek, prs, ledvina), v závislosti na použitém typu imunobarvení.
 - Stejně jako u každého imunohistochemického testu, znamená negativní výsledek, že antigen nebyl zjištěn, nikoli, že antigen není přítomný ve vyšetřovaných buňkách nebo tkáni.

- Předem připravené přípravy s protilátkami jsou optimalizované jako připravené k použití. Vzhledem k možnosti různých způsobů fixace a zpracování tkání může být potřeba pro jednotlivé vzorky prodloužit nebo zkrátit inkubační dobu primární protilátky.
- Protilátky, v kombinaci s detekčními systémy a příslušenstvím, detekují antigeny, které překážejí běžnou fixaci formalínem, zpracování a rozřezání tkáně. Uživatelé, kteří nedodrží doporučené postupy, musejí za těchto okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.

Specifická Omezení

- Cytoplasmatické barvení WT1 (6F-H2) je pozorováno v mnohých tkáních a typech buněk s proměnlivou intenzitou barvení. Význam cytoplasmatického barvení není zcela pochopen.^{4,5}

Souhrn očekávaných výsledků

Viz následující tabulky reaktivity:

Běžná studie			
Tkáň	Počet barvených (+)	Celkem	Poznámky
Velký mozek	0	3	
Mozeček	0	3	
Nadledvina	0	3	
Vaječník	3	3	3/3 stroma slabě +; 2/2 seróza +; 1/1 folikuly slabě v buňkách granulózy +
Slinivka	0	3	
Příštítná tělíska	0	3	
Hypofýza	0	3	
Varle	6	6	Sertoliho buňky, slabě/ mírně +; 2/2 epitel rete testis +; 1/6 buňky cévního hladkého svalstva, slabě/mírně cytoplasmatické (nepovažuje se za +)
Štítná žláza	0	3	
Prso	0	3	
Slezina	0	3	
Mandle	0	3	
Brzlík	0	3	
Kostní dřev	0	3	
Plíce	0	3	
Srdce	0	5	
Jícen	0	3	
Břícho	0	3	

Běžná studie			
Tkáň	Počet barvených (+)	Celkem	Poznámky
Tenké střevo	0	3	
Tračník	0	3	
Játra	0	3	
Slinná žláza	0	3	
Ledviny	6	6	Glomeruly slabě; podocyty +; 3/3 parietální epitelální buňky Bowmanova pouzdra slabě +
Prostata	0	3	
Děloha	4	4	Endometriální stroma slabě +
Čípek	0	3	
Kosterní sval	0	3	
Kůže	0	3	
Periferní nerv	0	3	
Mezoteliální výstelka	3	3	Slabě/mírně +

Endoteliální buňky, cévy a buňky cévního hladkého svalstva: Slabě/mírně cytoplasmatické

Studie postižené tkáně			
Tkáň	Počet barvených (+)	Celkem	Poznámky
Serózní nádor vaječníků	13	13	
Mezoteliom	6	10	
Invasivní duktální karcinom prsu	1	15	
Světlobuněčný karcinom vaječníků	0	4	
Kolorektální karcinom	0	23	
Embryonální karcinom	0	1	
Endometriální karcinom	0	2	
Ewingův sarkom	0	1	
Leiomyosarkomy	0	2	2/2 cytoplasmatické (nepovažuje se za +)
Adenokarcinom plic	0	2	
Lymfoblastický lymfom	0	2	
Neuroblastom	0	2	
Ovariální endometrioidní karcinom	0	4	
Mucinózní karcinom vaječníků	0	6	

Studie postižené tkáně			
Tkáň	Počet barvených (+)	Celkem	Poznámky
Mucinózní neoplazmy vaječníků	0	1	
Rhabdomyosarkom	0	2	2/2 cytoplasmatické (nepovažuje se za +)
Synoviosarkom	0	1	
Wilmsův nádor	0	5	

Řešení problémů

- Pokud pozitivní kontrola ukáže slabší zbarvení, než očekávané, je třeba během stejného cyklu barvení zkontrolovat další pozitivní kontrolní vzorky, aby se dalo stanovit, zda je to způsobeno primární protilátkou nebo některým z běžných sekundárních antigenů.
- Jestliže je pozitivní kontrola negativní, je třeba zkontrolovat další pozitivní kontrolní vzorky použité ve stejném cyklu, aby se dalo stanovit, zda základní příčina souvisí s primární protilátkou nebo některým z běžných sekundárních antigenů. Sběr, fixace nebo odstraňování parafinů z tkání mohlo být provedeno nesprávným způsobem. Sběr tkáně, její fixace a skladování musí probíhat ve správném postupu.
- Dojde-li k nadměrnému zbarvení pozadí, mohou být přítomné vysoké hladiny endogenního biotinu. Měl by být zahrnut i krok blokování biotinu, pokud není používán detekční systém bez biotinu; v takovém případě by přítomný biotin nepřispíval k zbarvení pozadí.
- Pokud není veškerý parafin odstraněn, je třeba proces odstranění parafinu opakovat.
- Pokud se tkáňový řez spláchne ze sklíčka, je třeba sklíčka zkontrolovat zda jsou kladně nabitá. Mezi další možnosti, které by mohly nepříznivě ovlivňovat adhezi tkáně, patří nedostatečné vysušení tkáňového řezu na krycím sklíčku před barvením nebo fixace ve formalínu, který nebyl vhodně neutrálně pufovaný. Tloušťka tkáně může být rovněž přispívající faktor.

Nápravná opatření naleznete v části Pokyny k použití nebo kontaktujte technickou podporu společnosti Cell Marque na adrese techsupport@cellmarque.com.

Literatura

- May RJ, et al. Peptide epitopes from the Wilms' tumor 1 oncoprotein stimulate CD4+ and CD8+ T cells that recognize and kill human malignant mesothelioma tumor cells. Clin Cancer Res. 2007; 13: 4547-55.
- Ghanem MA, et al. Expression and prognostic value of Wilms' tumor 1 and early growth response 1 proteins in nephroblastoma. Clin Cancer Res 2000; 6(11):4265-71.
- Al-Hussaini M, et al. WT-1 assists in distinguishing ovarian from uterine serous carcinoma and in distinguishing between serous and endometrioid ovarian carcinoma. Histopathology 2004; 44(2):109-15.
- Maki T, et al. Differential detection of cytoplasmic Wilms tumor 1 expression by immunohistochemistry, western blotting and mRNA quantification. Int J Oncol 2017; 50(1):129-140.

- Galfione SK, et al. Diagnostic utility of WT-1 cytoplasmic stain in variety of vascular lesions. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(5):2536-43.
- Köbel M, et al. An immunohistochemical algorithm for ovarian carcinoma typing. *Int J Gynecol Pathol* 2016; 35(5):430-41

Odmítnutí odpovědnosti

*TWEEN je registrovaná ochranná známka společnosti Croda International PLC.

©2021 Sigma-Aldrich Co. LLC. Všechna práva vyhrazena. SIGMA-ALDRICH je ochranná známka společnosti Sigma-Aldrich Co. LLC registrovaná v USA a dalších zemích. Cell Marque, Trilogy, Declere a HiDef Detection jsou ochranné známky společnosti Sigma-Aldrich Co. LLC nebo jejich přidružených společností.

 www.cellmarque.com

 6600 Sierra College Blvd. • Rocklin, CA 95677 USA • 916-746-8900

 EMERGO EUROPE
Prinsessegracht 20, 2514 AP The Hague, The Netherlands



CM Template #2.4
Implementation date 1 Feb 2021