

WT1 (6F-H2) Mouse Monoclonal Antibody

Zur Verwendung In Der In Vitro Diagnostik (IVD)

Produktbezeichnung

REF	Beschreibung
348M-94	0,1 ml Konzentrat
348M-95	0,5 ml Konzentrat
348M-96	1,0 ml Konzentrat
348M-97	1,0 ml vorverdünnt einsatzbereit
348M-98	7,0 ml vorverdünnt einsatzbereit
348M-90	25,0 ml vorverdünnt einsatzbereit

Definition der Symbole

KEY-CODE	Balkencode
P	Vorverdünnung
C	Konzentrat
A	Aszites
E	Überstand
S	Serum
DIL	Verdünnungsbereich des Konzentrats

Verwendungszweck

Dieser Antikörper ist für die Verwendung in der *In Vitro*-Diagnostik bestimmt.

WT1 (6F-H2) monoklonaler primärer Maus-Antikörper wird zum Laborgebrauch bei der Erkennung des Proteins WT1 in formalinfixiertem, Paraffin-eingebettetem Gewebe verwendet, das im Rahmen qualitativer immunhistochemischer (IHC) Tests gefärbt wurde.

Die Ergebnisse, die mithilfe dieses Produkts erlangt werden, müssen von einem qualifizierten Pathologen zusammen mit der relevanten Patienten-Anamnese, anderen Diagnostesttests und entsprechenden Protokollen interpretiert werden.

Zusammenfassung und Erklärung

Wilms-Tumor 1 Protein (WT1) ist ein Zinkfinger-Transkriptionsfaktor, der normalerweise bei Geweben mit mesodermalem Ursprung exprimiert.¹ Das Wilms-Tumorgen kodiert ein Protein, das als Tumorsuppressorgen wirkt.² WT1 wird in Tumorzellen des Wilms-Tumor (auch als Nephroblastom bekannt) und Mesotheliom erkannt.³ Zusätzlich wurde die WT1-Expriemung bei serösen Eileiterkarzinomen vorgefunden⁴ und einigen Mammakarzinomen gefunden.¹

Prinzipien und Verfahren

Der angegebene primäre Antikörper kann als primärer Antikörper für die immunhistochemische Färbung von formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten Gewebeabschnitten verwendet werden. Im Allgemeinen erlaubt die immunhistochemische Färbung in Verbindung mit einem an HRP oder alkalische Phosphatase gekoppelten Nachweissystem die Visualisierung von Antigenen durch die aufeinanderfolgende Verwendung eines spezifischen Antikörpers (Primärantikörper) gegen das Antigen, eines Sekundärantikörpers (Link-Antikörper) gegen den Primärantikörper, eines Enzymkomplexes und eines chromogenen Substrats mit dazwischen liegenden Waschschrritten. Die enzymatische Aktivierung des Chromogens resultiert in einem sichtbaren Reaktionsprodukt an der Antigenstelle. Die Probe kann dann gegengefärbt und es kann ein Coverlip angewandt werden. Danach kann die Probe gegengefärbt und mit einem Deckglas abgedeckt werden. Das Ergebnis wird unter dem Lichtmikroskop interpretiert.

Materialien und Verfahren

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien

Produktzusammensetzung	
Vorverdünnung: Verdünnt mit	Tris-Puffer, pH 7,3 - 7,7, mit 1% BSA und <0,1% Natriumazid
Konzentrat: Verdünnt mit	Tris-Puffer, pH 7,3 - 7,7, mit 1% BSA und <0,1% Natriumazid
Host	maus
Isotype	IgG ₁ /k
Empfohlener Verdünnungsbereich für die Arbeitslösung	1:100-1:500
Quelle	Überstand

Auf dem Produktetikett finden Sie chargenspezifische Informationen über folgende Punkte:

1. Antikörper-Immunglobulinkonzentration
2. Quelldetails

Rekonstitution, Mischung, Verdünnung, Titrierung

Der vorverdünnte Antikörper ist gebrauchsfertig und wurde für die Färbung optimiert. Es ist keine Rekonstitution, Mischung, Verdünnung oder Titrierung erforderlich. Der konzentrierte Antikörper wurde für eine Verdünnung mit dem Cell Marque Diamond: Antibody Diluent innerhalb des auf dem Produktetikett angegebenen Verdünnungsbereichs optimiert.

Benötigte, jedoch nicht gelieferte Materialien und Reagenzien

Die folgenden Reagenzien und Materialien können für das Färbeverfahren erforderlich sein, sind aber nicht im Lieferumfang des Primärantikörpers enthalten:

1. Positive und negative Kontrollgewebe

2. Mikroskop-Objektträger, positiv geladen
3. Trockenschrank mit der Leistung zur Aufrechterhaltung einer Temperatur von 53–65 °C
4. Färbeschalen oder Wannen
5. Timer
6. Xylol oder Xyloersatz
7. Ethanol oder Reagenzalkohol
Hinweis: Cell Marque's einstufige Vorbehandlung, Trilogy™ (Kat.-Nr. 920P-06) kann die Schritte 6 und 7 oben ersetzen.
8. Deionisiertes oder destilliertes Wasser
9. Gerät zum Erhitzen, z. B. elektrischer Drucktopf zur Gewebepreparierung
10. Nachweissystem, z. B. HiDef Detection™ HRP Polymer System (Kat.-Nr. 954D-20) oder HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (Kat.-Nr. 962D-20)
11. Chromogen, z. B. DAB Substrate Kit (Kat.-Nr. 957D-20) oder Permanent Red Chromogen Kit (Kat.-Nr. 960D-10)
12. TBS IHC Wash Buffer + Tween** 20 (Kat.-Nr. 935B-09)
13. Hematoxylin oder Gegenfärbung
14. Verdünnungsmittel für Antikörper, z. B. Diamond: Antibody Diluent (Kat.-Nr. 938B-05) oder Emerald: Antibody Diluent (Kat.-Nr. 936B-08)
15. Peroxide Block (Kat.-Nr. 925B-05) zum Gebrauch mit HRP
16. Avidin-Biotin Blocking Reagents zum Gebrauch mit Streptavidin-Biotin Nachweis
17. Negatives Kontrollreagenz (Kat.-Nr. 939B-02 universell)
18. Mounting Medium
19. Deckgläser
20. Lichtmikroskop (40–400 fache Vergrößerung)

Lagerung und Handhabung

Bei 2–8 °C lagern. Nicht einfrieren.

Um die ordnungsgemäße Abgabe der Reagenzien und die Stabilität des Antikörpers zu erhalten, nach jedem Durchlauf Spender-Verschlusskappe wieder aufsetzen und die Flasche sofort in aufrechter Position in den Kühlschrank stellen.

Jedes Antikörper-Reagenz ist mit einem Verfallsdatum versehen. Bei korrekter Aufbewahrung ist das Reagenz bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil. Reagenz nach Ablauf des Verfallsdatums für die angegebene Lagermethode nicht mehr verwenden.

Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen bei Instabilität der Reagenzien. Aus diesem Grund müssen immer gleichzeitig positive und negative Kontrollgewebe zusammen mit unbekanntem Proben gefärbt werden. Kontaktieren Sie den Technischen Support von Cell Marque, wenn der Verdacht einer Antikörperinstabilität besteht.

Entnahme und Vorbereitung der Proben zur Analyse

Entsprechend der Laborroutinemethode aufbereitete, neutral-gepufferte formalinfixierte, paraffineingebettete Gewebeproben sind zur Verwendung mit diesem Primärantikörper geeignet, wenn sie in Verbindung mit Cell Marque-Nachweisskits eingesetzt werden (siehe Abschnitt „Nicht im Lieferumfang enthaltene erforderliche Materialien und Reagenzien“). Hinweis: Mit Cell Marque kann nur die Leistung bei menschlichem Gewebe bewertet werden. Das empfohlene Gewebefixiermaterial ist 10 % neutral-gepuffertes Formalin. Infolge

verlängerter Gewebefixierung oder besonderer Prozesse wie einer Dekalkifikation bei der Vorbereitung des Knochenmarks können unterschiedliche Ergebnisse auftreten.

Jeder Schnitt muss die geeignete Stärke aufweisen (ca. 3 µm) und auf einen positiv geladenen Glasobjektträger aufgebracht werden. Die mit Gewebeschritten bestückten Objektträger können mindestens 2 Stunden (nicht länger als 24 Stunden) bei 53–65 °C im Ofen angebacken werden.

Warnhinweise und Vorsichtsmassnahmen

1. Treffen Sie beim Umgang mit den Reagenzien angemessene Vorsichtsmaßnahmen. Verwenden Sie beim Umgang mit mutmaßlichen Karzinogenen oder toxischen Materialien Einweg-Handschuhe und Laborkittel (Beispiel: Xylen).
2. Vermeiden Sie den Kontakt der Reagenzien mit den Augen oder Schleimhäuten. Bei Kontakt von Reagenzien mit empfindlichen Körperteilen mit reichlich Wasser ausspülen.
3. Patientenproben und alle Materialien, die mit diesen in Berührung gekommen sind, sind als biogefährliche Materialien zu behandeln und müssen unter Einhaltung der entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen entsorgt werden. Niemals mit dem Mund pipettieren.
4. Vermeiden Sie eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien, da dies zu unkorrekten Ergebnissen führen könnte.
5. Der Benutzer muss Inkubationszeiten und Temperaturen überprüfen.
6. Die vorverdünnten, gebrauchsfertigen Reagenzien sind optimal verdünnt, so dass eine weitere Verdünnung zu einer geringeren Antigenfärbung führen könnte.
7. Die konzentrierten Reagenzien können auf der Grundlage der Validierung durch den Benutzer optimal verdünnt werden. Jedes verwendete Verdünnungsmittel, das hier nicht speziell empfohlen wird, muss ebenfalls durch den Benutzer sowohl hinsichtlich seiner Kompatibilität als auch seiner Auswirkungen auf die Stabilität validiert werden.
8. Bei anweisungsgemäßer Verwendung wird dieses Produkt nicht als Gefahrstoff eingestuft. Das Konservierungsmittel in dem Reagenz ist weniger als 0,1 % Natriumazid und erfüllt bei der angegebenen Konzentration nicht die Kriterien für einen Gefahrstoff gemäß OSHA (USA). Siehe SDS.
9. Der Benutzer muss jegliche von den in der Packungsbeilage angegeben abweichenden Lagerungsbedingungen validieren.
10. Das Verdünnungsmittel kann Rinderserumalbumin enthalten und der Überstand kann Rinderserum enthalten. Fötales Rinderserum enthaltende Produkte und Rinderserumalbumin enthaltende Produkte werden von kommerziellen Anbietern gekauft. Ursprungszertifikate der für diese Produkte verwendeten tierischen Quelle sind bei Cell Marque in den Akten. Die Zertifikate bestätigen, dass die Rinderquellen aus Ländern mit einem unerheblichen BSE-Risiko stammen und nennen Rinderquellen aus den USA und Kanada.
11. Wie bei allen von biologischen Quellen stammenden Produkten sind entsprechende Verfahren zu befolgen.

Gebrauchsanweisung

Empfohlene Färbeprotokolle für den angegebenen primären Antikörper:

HiDef HRP:

HiDef Detection™ HRP Polymer System (Kat.-Nr. 954D-20)

1. Verfahren Epitopdemaskierung: HIER, Reagenz Epitopdemaskierung: Trilogy

2. Inkubationszeit für antikörper (Minuten): 10-30
3. Inkubationszeit für HiDef Detection Amplifier (Minuten): 10
4. Inkubationszeit für HiDef Detection Polymer Detector (Minuten): 10
5. Inkubationszeit für DAB (Minuten): 1-10
6. Dehydrieren und eindecken.

HiDef Alk Phos:

HiDef Detection™ Alk Phos Polymer System (Kat.-Nr. 962D-20)

1. Verfahren Epitopdemaskierung: HIER, Reagenz Epitopdemaskierung: Trilogy
2. Inkubationszeit für antikörper (Minuten): 10-30
3. Inkubationszeit für HiDef Detection Amplifier (Minuten): 10
4. Inkubationszeit für HiDef Detection Polymer Detector (Minuten): 10
5. Inkubationszeit für Permanent Red (Minuten): 15-30
6. Dehydrieren und eindecken.

Verfahren Zur Qualitätskontrolle

Positive Gewebekontrolle

Zusammen mit jedem Färbedurchlauf muss eine positive Gewebekontrolle mitlaufen. In diesem Gewebe können Zell- oder Gewebestandteile enthalten sein, die sich sowohl positiv als auch negativ färben und damit als Positiv- wie auch als Negativkontrolle verwendet werden können. Die Kontrollprobe muss aus frischem Gewebe einer Autopsie, Biopsie oder einem chirurgischen Eingriff bestehen und so schnell wie möglich auf identische Weise wie die Probenschnitte präpariert oder fixiert werden. Die Verwendung eines Kontrollschnitts, der auf andere Weise als das Testpräparat fixiert oder präpariert worden ist, dient der Kontrolle für alle Reagenzien und Verfahrensschritte, mit Ausnahme der Fixierung und Gewebepreparierung.

Eine Probe mit schwach positiver Färbung ist zur optimalen Qualitätskontrolle und zur Erkennung von geringfügigerem Reagenzienabbau besser geeignet. Eine positive Gewebekontrolle für den angegebenen primären Antikörper kann folgendes umfassen:

Positive Gewebekontrolle	
Gewebe	Visualisierung
Seröses Ovarialkarzinom	Kern
Mesotheliom	Kern
Niere	Kern
Hoden	Kern

Nachweislich positive Gewebekontrollen dürfen nur zur Kontrolle der korrekten Leistung von verarbeitetem Gewebe und Testreagenzien verwendet werden und nicht als Hilfe bei der Erstellung einer spezifischen Diagnose von Patientenproben. Wenn mit der positiven Gewebekontrolle keine angemessene positive Färbung nachgewiesen werden kann, müssen die Ergebnisse mit den Testpräparaten als ungültig gewertet werden.

Negative Gewebekontrolle

Für die negative Gewebekontrolle kann das gleiche Gewebe verwendet werden wie für die Positivkontrolle. Die Vielzahl der in den meisten Gewebeschnitten vorkommenden Zellarten bietet Stellen zur internen Negativkontrolle, die allerdings vom Benutzer überprüft werden müssen. Aufgabe der nichtfärbenden Komponenten ist es, das Fehlen spezifischer Färbungen nachzuweisen und auf unspezifische Hintergrundfärbungen hinzuweisen. Bei spezifischer Färbung der negativen Gewebekontrolle müssen die mit den Patientenproben erzielten Ergebnisse als ungültig gewertet werden.

Unerklärliche Abweichungen

Unerklärliche Abweichungen bei Kontrollen sollten unverzüglich dem Technischen Support von Cell Marque mitgeteilt werden. Wenn die Ergebnisse der Qualitätskontrolle die Spezifikationen nicht erfüllen, sind die Patientenergebnisse ungültig. Siehe Abschnitt „Fehlerbehebung“ in dieser Packungsbeilage. Identifizieren und korrigieren Sie das Problem, und wiederholen Sie anschließend das gesamte Verfahren mit den Patientenproben.

Negatives Kontrollreagenz

Für jede Probe muss ein negatives Kontrollreagenz mitlaufen, um die Interpretation der Ergebnisse zu unterstützen. Ein negatives Kontrollreagenz wird anstelle der Primärantikörperkontrolle zur Bewertung von unspezifischer Färbung durchgeführt. Der Objektträger sollte mit negativem Kontrollreagenz behandelt werden, das den Wirtsspezies des Primärantikörpers entspricht und idealerweise über dieselbe IgG-Konzentration verfügt. Die Inkubationszeit des negativen Kontrollreagenzes sollte der Inkubationszeit des primären Antikörpers entsprechen.

Interpretation der Ergebnisse

Das Immunfärbeverfahren hat ein gefärbtes Reaktionsprodukt zur Folge, das an den vom Primärantikörper lokalisierten Antigenstellen zu Präzipitat führt. Weitere Informationen zu den zu erwartenden Farbreaktionen sind der Packungsbeilage des entsprechenden Detektionssystems zu entnehmen. Ein mit immunohistochemischen Verfahren vertrauter qualifizierter Pathologe muss vor der Interpretation der Ergebnisse die positiven und negativen Gewebekontrollen evaluieren.

Positive Gewebekontrolle

Die gefärbte positive Gewebekontrolle muss zuerst untersucht werden, um zu gewährleisten, dass alle Reagenzien ordnungsgemäß funktionieren. Ein ordnungsgemäß gefärbtes Reaktionsprodukt in den Zielzellen ist Anzeichen für eine positive Reaktionsfähigkeit. Weitere Informationen zu den zu erwartenden Farbreaktionen sind der Packungsbeilage des Detektionssystems zu entnehmen. In Abhängigkeit von der Inkubationszeit und der Wirkungsstärke des verwendeten Hämatoxylins führt die Gegenfärbung zu einer hell- bis dunkelblauen Färbung der Zellkerne. Übermäßige oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen. Wenn mit der positiven Gewebekontrolle keine angemessene positive Färbung nachgewiesen werden kann, müssen die Ergebnisse mit den Testpräparaten als ungültig bewertet werden.

Negative Gewebekontrolle

Die negative Gewebekontrolle wird nach der positiven Gewebekontrolle untersucht, um zu überprüfen, ob die spezifische Anfärbung des Zielantigens mit dem Primärantikörper korrekt erfolgt ist. Nicht vorhandene spezifische Färbung in der negativen Gewebekontrolle bestätigt die fehlende unspezifische Kreuzreaktivität mit Zellen oder Zellkomponenten. Bei spezifischer Färbung der negativen Gewebekontrolle müssen die mit den Patientenproben erzielten Ergebnisse als ungültig bewertet werden. Bei Auftreten von unspezifischer Färbung

ist das Erscheinungsbild diffus. In Gewebeschnitten, die nicht optimal fixiert wurden, kann es auch zum sporadischen Auftreten von leichter Färbung von Bindegewebe kommen. Zur Interpretation der Färberegebnisse sollten intakte Zellen verwendet werden. Nekrotische oder degenerierte Zellen weisen eine unspezifische Färbung auf.

Patientengewebe

Die Untersuchung der Patientenproben erfolgt zum Schluss. Die Intensität der positiven Färbung muss unter Berücksichtigung der Hintergrundfärbungen der negativen Reagenzkontrolle bewertet werden. Wie bei jedem immunohistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis lediglich, dass das fragliche Antigen nicht nachgewiesen wurde, nicht jedoch, dass das Antigen in den untersuchten Zellen/Geweben nicht vorhanden ist. Eventuell kann zur Unterstützung bei der Identifikation von falsch-negativen Reaktionen ein Antikörper-Panel verwendet werden (siehe Abschnitt „Zusammenfassung der erwarteten Ergebnisse“). Bei der Interpretation aller immunohistochemischen Ergebnisse sollte die Morphologie aller Gewebeprobe zusätzlich auch mit Hilfe eines mit Hämatoxylin und Eosin gefärbten Schnittes untersucht werden. Die morphologischen Befunde der Patientenproben und die dazugehörigen klinischen Daten müssen von einem qualifizierten Pathologen interpretiert werden.

Einschränkungen

1. Die Antikörperfarbe hat keinen Einfluss auf das Ergebnis.
2. Dieses Reagenz ist nur für den professionellen Gebrauch, da Immunhistochemie ein aus mehreren Schritten bestehendes Verfahren ist, das eine spezielle Schulung bei der Auswahl der geeigneten Reagenzien, Gewebe, Fixierung und Aufbereitung, der richtigen Vorbereitung des immunohistochemischen Objektträgers und Interpretation der Färbungsergebnisse erfordert.
3. Nur für den Laborgebrauch.
4. Nur für die Verwendung in der *In vitro*-Diagnostik.
5. Die Gewebefärbung hängt von der Handhabung und Aufbereitung des Gewebes vor dem Färben ab. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder Kontamination mit anderen Geweben oder Flüssigkeiten kann zu Artefakten, zum Einschluss von Antikörpern oder zu falsch-negativen Ergebnissen führen. Inkonsistente Ergebnisse können die Folge von Abweichungen bei Fixierungs- und Einbettungsmethoden sowie von dem Gewebe inhärenten Unregelmäßigkeiten sein.
6. Übermäßige oder unvollständige Gegenfärbung kann die korrekte Interpretation der Ergebnisse beeinträchtigen.
7. Die klinische Interpretation jeglicher positiven Färbung oder Nichtfärbung muss unter Berücksichtigung der klinischen Anamnese, Morphologie, anderer histopathologischer Kriterien sowie weiterer diagnostischer Tests evaluiert werden. Dieser Antikörper ist für den Gebrauch in einem Antikörper-Panel, falls zutreffend, bestimmt. Es liegt in der Verantwortung eines qualifizierten Pathologen, mit dem Färbeverfahren und der Vorbereitung der Objektträger (einschließlich Antikörper, Reagenzien und Diagnose-Panels) vertraut zu sein. Die Färbung muss in einem zertifizierten und lizenzierten Labor unter Aufsicht eines Pathologen vorgenommen werden, der für die Überprüfung der gefärbten Objektträger sowie die Gewährleistung der adäquaten positiven und negativen Kontrollen verantwortlich ist.
8. Cell Marque Antikörper und Reagenzien werden in der optimalen Konzentration zur Verwendung entsprechend der Gebrauchsanweisung geliefert. Abweichungen von den empfohlenen Testverfahren können die erwarteten Ergebnisse ungültig machen. Es müssen entsprechende Kontrollen durchgeführt und protokolliert werden. Die Benutzer tragen unter allen Umständen unbedingt die Verantwortung für die Interpretation der Patientenergebnisse.
9. Cell Marque bietet Primäntikörper in konzentrierter Form an, damit der Benutzer diese später entsprechend seiner Entscheidung für und unter Einhaltung der geeigneten Validierungstechniken optimal für den jeweiligen Gebrauch verdünnen kann. Die Verwendung von anderen als den hier empfohlenen Verdünnungsmitteln muss von den Benutzern validiert werden. Nach erfolgter Validierung des Primäntikörpers kann jede Abweichung von den empfohlenen Testverfahren die erwarteten Ergebnisse ungültig machen. Es müssen entsprechende Kontrollen durchgeführt und protokolliert werden. Die Benutzer tragen unter allen Umständen unbedingt die Verantwortung für die Interpretation der Patientenergebnisse.
10. Dieses Produkt ist nicht für die Verwendung bei der Durchflusszytometrie bestimmt.
11. Bei Geweben, die im Vorfeld nicht getestet wurden, können unerwartete Reaktionen mit den verwendeten Reagenzien auftreten. Aufgrund der biologischen Schwankungen bei Antigenexpression in Neoplasmen oder anderen pathologischen Geweben können unerwartete Reaktionen auch bei getesteten Gewebegruppen nicht vollkommen ausgeschlossen werden. Wenden Sie sich mit einer Dokumentation mutmaßlicher, unerwarteter Reaktionen an den Technischen Support von Cell Marque.
12. Gewebe von mit dem Hepatitis B-Virus infizierten Personen und die das Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg) enthalten, können eine nichtspezifische Färbung mit Meerrettichperoxidase aufweisen.
13. Bei Verwendung in Verführung zur Blockierung können normale Seren von derselben tierischen Quelle wie die Sekundäntisera aufgrund der Wirkung von Autoantikörpern oder natürlichen Antikörpern zu falsch-negativen oder falsch-positiven Ergebnissen führen.
14. Falsch-positive Ergebnisse können aufgrund der nichtimmunologischen Bindung von Proteinen oder Substratreaktionsprodukten sichtbar werden. Sie können auch durch die Aktivität der Pseudoperoxidase (Erythrozyten), endogenen Peroxidase (Cytochrom C) oder des endogenen Biotins verursacht werden (Beispiel: Leber, Gehirn, Brust, Niere), je nach Art der verwendeten Immunfärbetechnik.
15. Wie bei jedem immunohistochemischen Test bedeutet ein negatives Ergebnis lediglich, dass das fragliche Antigen nicht nachgewiesen wurde, nicht jedoch, dass das Antigen in den untersuchten Zellen/Geweben nicht vorhanden ist.
16. Die vorverdünnten Antikörperprodukte sind als gebrauchsfertige Produkte optimiert. Aufgrund möglicher Unterschiede bei der Gewebefixierung und -aufbereitung ist es ggf. erforderlich, die Inkubationszeit der Primäntikörper bei einzelnen Proben zu erhöhen oder zu senken.
17. Der Antikörper in Kombination mit Detektionssystemen und Zubehör erkennt Antigene, die die routinemäßige Formalinfixierung, Gewebepreparierung und das Schneiden überleben. Benutzer, die von den empfohlenen Testverfahren abweichen, haften, wie das unter allen anderen Umständen auch der Fall wäre, selbst für die Interpretation und Validierung der Patientenergebnisse.

Zusammenfassung der erwarteten Ergebnisse

Siehe folgende Reaktionstabellen:

Normale Studie			
Gewebe	Anzahl gefärbt (+)	Gesamtzahl	Anmerkungen
Gehirn	0	1	
Nebennierenrinde	0	1	
Eierstock	0	1	
Bauchspeicheldrüse	0	1	
Nebenschilddrüse	0	1	
Hypophyse	0	1	
Hoden	1	1	Sertoli-Zellen
Schilddrüse	0	1	
Brust	1	1	Myoepithel
Milz	0	1	
Tonsille	0	1	
Thymus	0	1	
Knochenmark	1	1	Makrophagen
Lunge	0	2	
Herz	1	1	Herzmuskel
Speiseröhre	0	1	
Magen	0	1	
Dünndarm	0	1	
Darm	0	1	
Leber	0	1	
Speicheldrüse	1	1	Zytoplasmatisch
Gallenblase	0	1	
Niere	1	1	Glomeruli
Blase	1	1	
Prostata	0	1	
Uterus	2	2	Myometrium (glatte Muskulatur)
Eileiter	1	1	
Ureter	0	1	
Gebärmutterhals	0	1	
Skelettmuskel	0	1	

Normale Studie			
Gewebe	Anzahl gefärbt (+)	Gesamtzahl	Anmerkungen
Glatter Muskel	2	2	
Haut	0	1	
Periphere Nerven	0	1	
Mesothel	0	1	
Fett	0	1	
Plazenta	0	1	

Dieser Antikörper färbt normale Gewebe wie in der Literatur angezeigt.

Krankheitsgewebestudie			
Gewebe	Anzahl gefärbt (+)	Gesamtzahl	Anmerkungen
Seröses Ovarialkarzinom	9	19	
Mesotheliom	6	10	
Invasives Duktalkarzinom der Brust	3	23	
Kolonkarzinom	0	23	

Dieser Antikörper färbt Tumore wie in der Literatur angezeigt.

Fehlersuche

- Falls die positive Kontrolle eine schwächere Färbung als erwartet aufweist, sollten andere positive Kontrollen, die im selben Färbedurchlauf enthalten waren, überprüft werden, um zu bestimmen, ob dies auf den primären Antikörper oder auf eines der üblichen Sekundärreagenzien zurückzuführen ist.
- Falls die Positivkontrolle negativ ist, sollten andere Positivkontrollen aus demselben Durchlauf geprüft werden, um festzustellen, ob die Ursache im Zusammenhang mit dem Primäantikörper oder einem der üblichen Sekundärreagenzien steht. Gewebe können unsachgemäß gewonnen, fixiert oder entparaffiniert worden sein. Entnahme, Lagerung und Fixierung der Gewebeproben müssen sachgemäß ausgeführt werden.
- Wenn es zu einer übermäßigen Hintergrundfärbung kommt, können hohe Spiegel endogenen Biotins vorliegen. Es sollte ein Verfahren zur Blockierung von Biotin durchgeführt werden, es sei denn, dass ein Biotin-freies Detektionssystem verwendet wird. In diesem Fall würde jegliches vorhandenes Biotin nicht zu einer Hintergrundfärbung beitragen.
- Wenn nicht das gesamte Paraffin entfernt wurde, sollte das Entparaffinierungsverfahren wiederholt werden.
- Wenn die Gewebeschnitte vom Objektträger abgewaschen werden, sollten die Objektträger überprüft werden, um sicherzustellen, dass sie positiv geladen sind. Weitere Möglichkeiten, die sich negativ auf die Gewebefärbung auswirken könnten sind unzureichendes Trocknen des Gewebeschnittes auf dem Objektträger vor dem Färben oder

eine Formalinfixierung, die nicht ordnungsgemäß neutral-gepuffert wurde. Auch die Dicke der Gewebeschnitte könnte dazu beitragen.

Zur Mängelbehebung ziehen Sie bitte die Gebrauchsanweisung heran oder kontaktieren Sie den Technischen Support von Cell Marque unter techsupport@cellmarque.com.

Literatur

1. 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.
2. Foster MR, et al. Immunohistochemical analysis of nuclear versus cytoplasmic staining of WT1 in malignant mesotheliomas and primary pulmonary adenocarcinomas. Arch Pathol Lab Med. 2001; 125:1316-20.
3. Nakatsuka S, et al. Immunohistochemical detection of WT1 protein in a variety of cancer cells. Mod Pathol. 2006; 19:804-14.
4. Goldstein NS, et al. WT1 immunoreactivity in uterine papillary serous carcinomas is different from ovarian serous carcinomas. Am J Clin Pathol. 2002; 117:541-5.

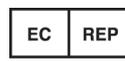
Haftungsausschluss

*TWEEN ist eine eingetragene Handelsmarke der Croda International PLC.

©2017 Sigma-Aldrich Co. LLC. Alle Rechte vorbehalten. SIGMA-ALDRICH ist eine in den USA und anderen Ländern eingetragene Handelsmarke der Sigma-Aldrich Co. LLC. Cell Marque, Trilogy, Declere und HiDef Detection sind Handelsmarken der Sigma-Aldrich Co. LLC oder ihrer Tochtergesellschaften.

 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 10 Nov 2017