

# Nanog (EP225) Rabbit Monoclonal Primary Antibody

*K použití v diagnostice in vitro (IVD)*

## Identifikace produktu

REF	Popis
443R-14	0,1 ml koncentrát
443R-15	0,5 ml koncentrát
443R-16	1,0 ml koncentrát
443R-17	1,0 ml předředěný připravený k použití
443R-18	7,0 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).

Primární protilátka Nanog (EP225) Rabbit Monoclonal Primary Antibody je určena pro laboratorní použití při detekci proteinu nanog v tkáni fixované formalínem 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

Nanog je homeoprotein charakteru transkripčního faktoru, důležitý pro udržení pluripotentního charakteru a schopnosti sebeobnovy embryonálních kmenových buněk.<sup>1-3</sup> Embryonální kmenové buňky s delecí genu Nanog ztrácejí pluripotenci. Embryonální kmenové buňky procházející diferenciací budou vykazovat down-regulaci exprese Nanog.<sup>1-2</sup> Absence exprese Nanog byla prokázána v normálních orgánových tkáních u dospělých, pozitivní exprese byla pozorována u nediferencovaných germinálních tumorů jako seminom,

dysgerminom a embryonální karcinom.<sup>1,2,4,5</sup> Z toho důvodu lze Nanog použít jako pomůcku při odlišování nediferencovaných tumorů vycházejících ze zárodečných buněk od nongerminálních tumorů.<sup>4,5</sup>

## Principy a postupy

Uvedená primární protilátka se používá jako primární protilátka při imunohistochemickém barvení tkáňových řezů fixovaných formalínem 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 položena promývacími kroky. Enzymatická aktivace chromogenu vede k viditelnému reakčnímu produktu v místě antigenu. Vzorek pak může být kontrastně obarven a zakryt krycím skličkem. 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	králíčí
Izotyp	IgG
Doporučený rozsah pracovního ředění	1:50-1:200
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 xylynu
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 vaříč 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 protilátek, 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 formalín. V důsledku delší fixace nebo speciálních procesů, jako např. dekalifikace preparátů kostní dřevě, 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 tkáně je třeba sušit po dobu nejméně 2 hodin (avšak ne déle než 24 hodin) při teplotě 53 až 65 °C.

## Upozornění a bezpečnostní předpisy

1. Při zacházení s činidly buďte opatrní. Používejte jednorázové rukavice a laboratorní pláště při manipulaci s podezřelými karcinogenními nebo jedovatými materiály (například: xylen).
2. Vyvarujte se kontaktu činidel s očima nebo sliznicemi. Jestliže se činidla dostanou do kontaktu s citlivými oblastmi, omyjte je vydatným množstvím vody.
3. 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.
4. Vyvarujte se mikrobiologické kontaminaci činidel, protože by to mohlo způsobit nesprávné výsledky.
5. Uživatel musí validovat inkubační doby a teploty.
6. Předředěná činidla připravená k použití jsou optimálně zředěna a další ředění může vést ke ztrátě barvení antigenu.
7. Koncentrovaná 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.
8. 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 nenaplníuje kritéria OSHA (USA) pro nebezpečnou látku. Viz bezpečnostní list.
9. Uživatel musí ověřit jakékoli skladovací podmínky, které jsou jiné, než je uvedeno v příbalovém letáku.
10. 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.
11. 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)

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

### HiDef Alk Phos:

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

1. 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 Permanent Red (minuty): 15-30
- 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 testované řezy. 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
Seminom	Jademá

Známé pozitivní kontrolní vzorky tkání 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 neprojevují 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.

### Nevysvětlené 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 napravíte problém, a pak zopakujete celý postup se vzorky pacienta.

### Negativní kontrolní činidlo

K usnadnění interpretace výsledků je třeba provést pro každý vzorek cyklus s negativním 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 neprojevují 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 vyskytují 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 protilátky 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 křenuvé peroxidázy.
- 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 (erytrocyty) 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.
- Předředěné přípravky s protilátkami jsou optimalizované jako připravené k použití. Vzhledem k možnostem 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 formalinem, zpracování a rozřezání tkáně. Uživatelé, kteří nedodrží doporučené postupy, musejí za těchto okolností přijmout zodpovědnost za interpretaci výsledků pacienta.

### Souhrn očekávaných výsledků

Viz následující tabulky reaktivity:

Běžná studie			
Tkáň	Počet barvených (+)	Celkem	Poznámky
Mozek	0	3	
Kůra nadledvin	0	3	
Vaječník	0	6	
Slinivka	0	3	
Příštítná tělíska	0	3	
Hypofýza	0	3	
Varle	1	5	
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	3	
Jícen	0	3	
Břícho	0	3	
Tenké střevo	0	3	
Tračník	0	3	
Játra	0	3	
Slinná žláza	0	3	
Žlučník	0	3	
Ledviny	0	3	
Močový měchýř	0	3	
Prostata	0	3	
Děloha	0	3	
Vejcovod	0	3	
Močovod	0	3	
Čípek	0	3	
Kosterní sval	0	3	
Hladký sval	0	3	

Běžná studie			
Tkáň	Počet barvených (+)	Celkem	Poznámky
Kůže	0	3	
Periferní nerv	0	3	
Mesothelium	0	3	
Tuk	0	1	
Placenta	0	3	

**NENÍ K DISPOZICI**

Studie postižené tkáně			
Tkáň	Počet barvených (+)	Celkem	Poznámky
Seminom	33	36	
Dysgerminom	4	4	
Embryonální karcinom	4	4	
Teratom	3	3	
Translační renální karcinom	3	15	Cytoplasmatické +
Choriokarcinom	0	1	
Světlobuněčný renální karcinom	0	5	
Karcinom tlustého střeva	0	5	Cytoplasmatické +
Endometriální karcinom	0	5	Cytoplasmatické +
Nádor z granulózničních buněk	0	3	
Hepatocelulární karcinom	0	4	
Nádor z Leydigových buněk	0	1	
Adenokarcinom plic	0	4	Cytoplasmatické +
Smišený germinální nádor	0	1	
Karcinom vaječniku (nemucinózní karcinom)	0	5	Cytoplasmatické +
Semenné vajíčky	0	1	
Nádor ze Sertolihových buněk	0	1	
Karcinom žaludku difuzního typu	0	3	
Karcinom žaludku střevního typu	0	1	Cytoplasmatické +
Nádor ze žloutkového vaku	0	2	

**NENÍ K DISPOZICI**
**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 nepříspěval 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](mailto:techsupport@cellmarque.com).

**Literatura**

- Mitsu K, et al. The homeoprotein Nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell*. 2003; 113:631-42.
- Chambers et al. Functional expression cloning of Nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells. *Cell*. 2003; 113:643-55.
- Pan G, et al. Nanog and transcriptional networks in embryonic stem cell pluripotency. *Cell Research*. 2007; 17:42-9
- Hart AH, et al. The pluripotency homeobox gene NANOG is expressed in human germ cell tumors. *Cancer*. 2005; 104:2092-98.
- Chang MC, et al. Embryonic stem cell transcription factors and D2-40 (podoplanin) as diagnostic immunohistochemical markers in ovarian germ cell tumors. *Int J Gynecol Pathol*. 2009; 28:347-55.

**Odmítnutí odpovědnosti**

Společnost Cell Marque je zákonným výrobcem značkových protilátek pro diagnostiku *in vitro* Cell Marque + RabMAB. Společnost Cell Marque využívá pro tuto značku technologii RabMAB společnosti Abcam PLC. Králičí monoklonální technologie je patentovaná a RabMAB je registrovaná ochranná známka společnosti Abcam PLC.

\*TWEEN je registrovaná ochranná známka společnosti Croda International PLC.

©2017 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](http://www.cellmarque.com)



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



EC	REP
----	-----

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



CM Template #2.4  
Implementation date 9 Nov 2017