



ZytoLight

SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit

REF Z-2020-5

Σ 5

REF Z-2020-20

Σ 20

Az emberi ERBB2 génamplifikációk és a 17 kromoszóma alfa-szatellitek minőségi kimutatására fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH)

4250380N447S



In vitro diagnosztikai orvostechikai eszköz
az IVDR (EU) 2017/746 szerint

1. Rendeltetészerű cél

A ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit a humán ERBB2 gént érintő amplifikációk minőségi kimutatására, valamint a 17-es kromoszóma alfa-szatellitek kimutatására szolgál formalin-fixált, paraffinba ágyazott mintákban, például emlőrákban és gyomor/nyelőcső-nyelőcső-összeköttetési rákban, fluoreszcens *in situ* hibridizációval (FISH).

A termék kizárólag professzionális használatra készült. A termékkel végzett valamennyi vizsgálatot minősített, engedéllyel rendelkező anatómiai patológiai laboratóriumban, patológus/humán genetikai felügyelete mellett, szakképzett személyzetnek kell elvégeznie.

A próba az emlőrák és a gyomor/nyelőcsőrák differenciáldiagnózisának segédeszközeként szolgál, és terápiás intézkedéseket nem szabad kizárólag a teszteredmény alapján kezdeményezni.

2. A vizsgálat elve

A fluoreszcens *in situ* hibridizációs (FISH) technika lehetővé teszi specifikus nukleinsav-szekvenciák kimutatását és vizualizálását sejt készítményekben. A fluoreszcensen jelölt DNS-törödékek, az úgynevezett FISH-szondák és a preparátumokban lévő komplementer cél-DNS-szálak együttesen denaturálódnak, majd a hibridizáció során hagyják, hogy a DNS-törödékek egymáshoz kapcsolódjanak. Ezt követően a nem specifikus és nem kötött szondafragmentumokat szigorú mosási lépésekkel távolítják el. A DNS DAPI-val történő ellenfestése után a hibridizált szondafragmentumokat fluoreszcens mikroszkóp segítségével vizualizáljuk, amely olyan gerjesztő és emissziós szűrőkkel van felszerelve, amelyek specifikusak azokra a fluorokromokra, amelyekkel a FISH-szondafragmentumokat közvetlenül jelölték.

3. Rendelkezésre bocsátott reagensek

A ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit két méretben kapható, és a következőkből áll:

Kód:	Komponens	Mennyiség		Konténer
		5	20	
PT1	Heat Pretreatment Solution Citric	150 ml	500 ml	Csavaros kupakos üveg (nagy)
ES1	Pepsin Solution	1 ml	4 ml	Cseppentős üveg, fehér kupakkal
WB1	Wash Buffer SSC	210 ml	560 ml	Csavaros kupakos üveg (nagy)
PL8	ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe	0.05 ml	0.2 ml	Reakcióedény, fedél piros színű
WB2	25x Wash Buffer A	50 ml	2x50 ml	Csavaros kupakos üveg (közepes)
MT7	DAPI/DuraTect-Solution	0.2 ml	0.8 ml	Reakcióedény, kék fedél
	Instructions for use	1	1	

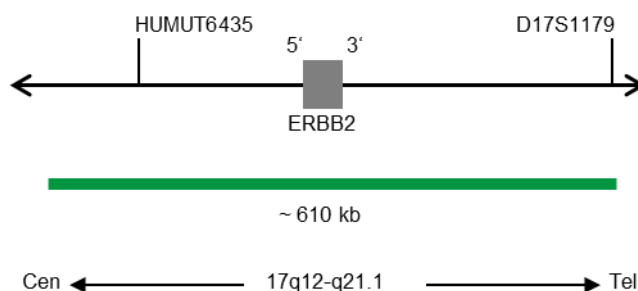
Z-2020-5 (5 vizsgálat): ES1, PL8, és MT7 komponensek 5 reakcióhoz elegendőek. A WB2 komponens 5x 3 festőedényhez elegendő, egyenként 70 ml-es kiserelésben. A PT1 komponens elegendő 2 db, egyenként 70 ml-es festőedényhez. A WB1 komponens elegendő 3 darab, egyenként 70 ml-es festőedényhez.

Z-2020-20 (20 vizsgálat): ES1, PL8, és MT7 komponensek 20 reakcióhoz elegendőek. A WB2 komponens 11x 3 festőedényhez elegendő, egyenként 70 ml-es kiserelésben. A PT1 komponens 7 darab, egyenként 70 ml-es festőedényhez elegendő. A WB1 komponens 8 darab, egyenként 70 ml-es festőedényhez elegendő.

A ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (PL8) a következőkből áll:

- ZyGreen (gerjesztés 503 nm/emisszió 528 nm) jelölt polinukleotidok (~10,0 ng/μl), amelyek a 17q12-q21.1* (chr17:37,572,531-38,181,308), az ERBB2 génterületet tartalmazó szekvenciákat célozzák meg (lásd az 1. ábrát).
- ZyOrange (gerjesztés 547 nm/emisszió 572 nm) jelölésű polinukleotidok (~1,5 ng/μl), amelyek a 17p11.1-q11.1 kromoszóma D17Z1 alfa-szatellit centromerikus régiójára specifikus, 17p11.1-q11.1 szekvenciákat célozzák (lásd az 1. ábrát).
- Formamid alapú hibridizációs puffer

*a Human Genome Assembly szerint GRCh37/hg19



1. ábra: SPEC ERBB2 (nem méretarányos)

4. Szükséges, de nem biztosított anyagok

- Pozitív és negatív kontrollminták
- Mikroszkópos tárgylemezek, pozitív töltésű
- Vízfürdő (37 °C, 98 °C)
- Hibridizátor vagy főzőlap
- Hibridizáló vagy pára kamra a hibridizációs kemencében
- Állítható pipetták (10 μl, 25 μl)
- Festőedények vagy fürdők
- Időzítő
- Kalibrált hőmérő
- Etanol vagy reagens alkohol
- Xilol
- Deionizált vagy desztillált víz



- fedőlemezek (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Gumicement, pl. Fixogum Rubber Cement (Prod. No.E-4005-50/-125) vagy hasonló.
- Megfelelően karbantartott fluoreszcens mikroszkóp (400-1000x)
- Fluoreszcens mikroszkópiához jóváhagyott merülőolaj
- Megfelelő szűrőkészletek

5. Tárolás és kezelés

2-8 °C-on, fénytől védett, függőleges helyzetben tárolja. Használja fénytől védve. Használat után azonnal állítsa vissza a tárolási körülmények közé. Ne használja fel a reagenseket a címkén feltüntetett lejárati időn túl. A termék a címkén feltüntetett lejárati dátumig stabil, ha megfelelően kezelik.

6. Figyelmeztetések és óvintézkedések

- Használat előtt olvassa el a használati utasítást!
- Ne használja fel a reagenseket a lejárati idő lejárta után!
- Ez a termék (kis koncentrációban és mennyiségben) egészségre káros és potenciálisan fertőző anyagokat tartalmaz. Kerülje a reagensekkel való közvetlen érintkezést. Tegyén megfelelő védőintézkedéseket (használon eldobható kesztyűt, védőszemüveget és laboratóriumi ruházatot)!
- A termékkel kapcsolatban bekövetkezett minden súlyos eseményt jelentsen a gyártónak és a helyi előírásoknak megfelelően az illetékes hatóságoknak!
- Ha a reagensek bőrrel érintkeznek, azonnal öblítse le a bőrt bőséges mennyiségű vízzel!
- A professzionális felhasználók számára kérésre biztonsági adatlap áll rendelkezésre.
- Ne használja újra a reagenseket, kivéve, ha az újrafelhasználás kifejezetten engedélyezett!
- Kerülje a minták keresztszennyeződését, mivel ez hibás eredményekhez vezethet.
- A **PL8**-at és az **MT7**-et nem szabad hosszabb ideig fénynek, különösen erős fénynek kitenni, azaz minden lépést lehetőség szerint sötétben és/vagy fényálló edényben kell elvégezni.

Veszélyre és óvintézkedésekre vonatkozó az PL8 nyilatkozatok:

A veszélyt meghatározó komponens a formamid.



Veszély

H351	Feltehetően rákot okoz..
H360FD	Károsíthatja a termékenységet. Károsíthatja a magzatot.
H373	Hosszan tartó vagy ismételt expozíció esetén szervi károsodást okozhat.
P201	Használat előtt kérje be a speciális utasításokat.
P202	Ne kezelje, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.
P260	Ne lélegezze be a port/füstöt/gázt/ködöt/gőzt/permetet.
P280	Viseljen védőkesztyűt/védő ruházatot/szemvédőt/arcvédőt.
P308+P313	HA kitett vagy érintett: Kérjen orvosi tanácsot/megfigyelést.
P405	Elzárva tárolandó

Az ES1 speciális címkézése:

EUH208	pepsin A-t tartalmaz. Allergiás reakciót válthat ki.
EUH210	Kérésre biztonsági adatlap kapható..

Veszély- és óvintézkedési nyilatkozatok az PT1, WB1 és WB2 esetében:

A veszélyt meghatározó komponens a reakciófőmög: EK-szám: 247-500-7] és 2-metil-2H-izotiazol-3-on [EK-szám: 220-239-6] (3:1).



Figyelem

H317	Allergiás bőrreakciót válthat ki.
P261	Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését.
P272	Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről.
P280	Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem/... használata kötelező.
P302+P352	HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő vízzel
P333+P313	Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni.
P362+P364	A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni.

Veszély- és óvintézkedési nyilatkozatok az MT7 esetében:

Ez a próba az 1272/2008/EK rendelet szerint nem minősül veszélyesnek.

7. Korlátozások

- *In vitro* diagnosztikai felhasználásra.
- Kizárólag professzionális használatra.
- Kizárólag nem automatizált használatra.
- A pozitív festődés klinikai értelmezését vagy annak hiányát a klinikai anamnézis, a morfológia, az egyéb szövettani kritériumok, valamint az egyéb diagnosztikai vizsgálatok összefüggésében kell elvégezni. A képzett patológus/humángenetikai felelőssége, hogy ismerje a FISH-szondákat, a reagenseket, a diagnosztikai paneleket és a festett preparátum előállításához használt módszereket. A festést tanúsított, engedélyezett laboratóriumban kell elvégezni, patológus/humángenetikai felügyelete mellett, aki felelős a festett tárgylemezek felülvizsgálatáért és a pozitív és negatív kontrollok megfelelőségének biztosításáért.
- A minták festése, különösen a jelintenzitás és a háttérfestés, függ a minta festést megelőző kezelésétől és feldolgozásától. A nem megfelelő fixálás, fagyasztás, felolvasztás, mosás, szárítás, melegítés, szeletelés vagy más mintákkal vagy folyadékokkal való szennyeződés artefaktumokat vagy hamis eredményeket eredményezhet. Az inkonzisztens eredmények a fixálási és beágyazási módszerek eltéréseiből, valamint a mintában rejlő szabálytalanságokból adódhatnak.
- A szonda csak a 3. fejezetben leírt lókuszkok kimutatására használható. "Reagensek".
- A teljesítményt a jelen használati utasításban leírt eljárásokkal validálták. Ezen eljárások módosítása megváltoztathatja a teljesítményt, és azt a felhasználónak kell hitelesítenie. Ez az IVD csak akkor rendelkezik CE tanúsítvánnyal, ha az ebben a használati utasításban leírtak szerint, a rendeltetésszerű használat körében használják.

8. Interferenciát kiváltó anyagok

A mintában lévő vörösvértestek autofluoreszcenciát mutathatnak, ami akadályozza a jelfelismerést.

A következő fixálószerrek nem kompatibilisek a FISH-vel:

- Bouin-fixáló
- B5 fixáló
- savas fixálók (pl. pikrinsav)
- Zenker-fixáló
- Alkoholak (önmagukban használva)
- Higany-klorid
- Formaldehid/cink fixáló
- Hollande fixáló
- Nem pufferelt formalin

9. A minták előkészítése

Ajánlások:

- Kerülje a minták keresztzennyeződését, mivel ez hibás eredményekhez vezethet.
- Fixálás 10% semleges pufferelt formalinban 24 órán keresztül szobahőmérsékleten (RT, 18°C-25°C).
- Mintaméret $\leq 0,5 \text{ cm}^3$
- Használjon prémium minőségű paraffint.
- A beágyazást 65 °C-nál alacsonyabb hőmérsékleten kell végezni.
- Készítsen 2-4 μm -es mikrotomos metszeteket.
- Használjon pozitív töltésű tárgylemezeket.
- Fixáljuk a szövetszelvényeket 2-16 órán át 50-60 °C-on.

10. A készülék előkészítő kezelése

A 25x Wash Buffer (WB2) puffert a 11. pontban leírtak szerint kell elkészíteni. „Assay procedure” (Vizsgálati eljárás). Az összes többi kit-reagens használatra kész. Nincs szükség rekonstitúcióra, keverésre vagy hígításra.

Használat előtt a szondát szobahőmérsékletre (18-25 °C) kell hozni, fénytől óvni kell. Az injekciós üveg felnyitása előtt vortexeléssel keverje össze, és rövid ideig forgassa le.

11. Vizsgálati eljárás

11.1 1. nap

Előkészítő lépések

1. Készítsünk etanol-sorozatot (70%-os, 90%-os és 100%-os etanolos oldatok): Hígítsuk fel a 100%-os etanolt ionmentesített vagy desztillált vízzel. Ezek az oldatok megfelelő tartályokban tárolhatók és újra felhasználhatók.
2. Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2): Melegítse 98 °C-ra egy lefedett festőedénybe..
3. Wash Buffer SSC (WB1): Hozza szobahőmérsékletre (RT). A WB1 2-8°C-on csapadékot képezhet, amely nem befolyásolja a minőséget, és melegítéskor fel kell oldódnia.
4. ZytoLight FISH Probe: Használat előtt RT-re kell hozni, fénytől óvni kell.

Választható, ha a poszt-fixálás utáni lépést végzi:

(erősen ajánlott, ha a szövetek rögzítése nem optimális)

Készítsen 1%-os formaldehid oldatot a Formaldehyde Dilution Buffer Set (PT-0006-100) segítségével.

Előkezelés (viaszmentesítés/proteolízis)

1. Inkubálja a tárgylemezeket 10 percig 70°C-on (pl. melegítőlapon).
2. Inkubálja a tárgylemezeket 2x 10 percig xilolban.
3. Inkubáljuk 100%-os, 100%-os, 90%-os és 70%-os etanolban, egyenként 5 percig.
4. Mossunk 2x 2 percig ionmentesített vagy desztillált vízben.
5. Inkubáljuk 15 percig 98°C-on előmelegített Heat Pretreatment Solution Citric (PT1).

Javasoljuk, hogy festőedényenként legfeljebb nyolc tárgylemezt használjon.

6. Azonnal helyezze át a tárgylemezeket ionmentesített vagy desztillált vízbe, mossa 2x 2 percig, majd öntse le vagy törölje le a vizet.
7. Vigyen fel (cseppenként) Pepsin Solution (ES1) a mintákra, és inkubálja 15 percig 37°C-on, pára kamrában.

Az **ES1** csapadékot képezhet, amely nem befolyásolja a minőséget

Több tényezőtől függően, pl. a rögzítés jellegétől és időtartamától, a metszetek vastagságától és a szövetek/sejtek jellegétől, különböző inkubációs időkre lehet szükség. Az inkubációs időre vonatkozó iránymutatásként szövetminták esetében 2-30 perc, sejtminták esetében pedig 2-15 perc inkubációs időt ajánlunk. Általános szabályként javasoljuk, hogy a proteolízis optimális idejét előzetes vizsgálatok során állapítsa meg.

8. 5 percig mossunk Wash Buffer SSC (WB1).

Választható, ha a poszt-fixálás utáni lépést végzi:

Inkubáljuk a tárgylemezeket 15 percig 1%-os formaldehid oldatban, majd mossuk 5 percig Wash Buffer SSC (WB1)

9. 1 percig mossuk ionmentesített vagy desztillált vízben.
10. Dehidratálás: 70%-os, 90%-os és 100%-os etanolban, egyenként 1 percig.
11. Légszáraz szakaszok.

Megjegyzés: A szonda felhelyezése előtt a metszeteket teljesen meg kell szárítani, mivel a maradék nedvesség csökkentheti a jel intenzitását és/vagy befolyásolhatja a szövetek morfológiáját.

Denaturáció és hibridizáció

1. Pipetázzon 10 μl ZytoLight FISH Probe-t minden előkezelt mintára.

Kerülje a szonda hosszú ideig tartó fényhatását.

2. Fedje le a mintákat egy 22 mm x 22 mm-es fedőlappal (kerülje el a beszorult buborékokat), és zárja le a fedőlapot.

A tömítéshez gumicement (pl. Fixogum Rubber Cement) használatát javasoljuk.

3. Helyezze a tárgylemezeket forró lemezre vagy hibridizátorra, és denaturálja a mintákat 10 percig 75°C-on.
4. Helyezze át a tárgylemezeket egy pára kamrába, és hibridizáljon egy éjszakán át 37 °C-on (pl. hibridizációs kemencében).

Alapvető fontosságú, hogy a szövet/sejtminták ne száradjanak ki a hibridizációs lépés során.

11.2 2. nap

Előkészítő lépések

1. 1x Wash Puffer A mosópuffer elkészítése: Hígítson fel 1 rész 25x Wash Buffer A (WB2) 24 rész deionizált vagy desztillált vízzel. Töltsön meg három festőedényt az 1x Wash Buffer A-val, és melegítse elő 37°C-ra.

A hígított 1x Wash Buffer A egy hétig stabil, 2-8°C-on tárolva.

2. DAPI/DuraTect-Solution (MT7): Használat előtt hozza szobahőmérsékletre, védje a fénytől.

Hibridizálás és kimutatás

1. Óvatosan távolítsa el a gumibetétet vagy a ragasztót.
2. A fedőlemezt 1x Wash Buffer A pufferben 37°C-on 1-3 percig tartó áztatással távolítsa el.
3. Mossunk 1x Wash Puffer A-val 2x 5 percig 37°C-on.

A 1x Wash Buffer A t elő kell melegíteni. Szükség esetén hőmérővel ellenőrizze

4. Inkubálja a tárgylemezeket 70%-os, 90%-os és 100%-os etanolban, egyenként 1 percig.
5. A mintákat a levegőn, fénytől védve szárítsa meg.
6. Pipetázzon 25 μl DAPI/DuraTect-Solution (MT7) a tárgylemezekre. A beszorult buborékok elkerülése érdekében fedjük le a mintákat fedőlemezrel (24 mm x 60 mm). Inkubáljuk sötétben 15 percig.

A nyílás méretének növelése érdekében levágott pipettahegy használata megkönnyítheti a pipettázási folyamatot. Kerülje a hosszú fényhatást.

7. Tárolja a diát sötétben. Hosszabb tárolás esetén ezt 2-8 °C-on kell végezni.
8. A mintaanyag értékelése fluoreszcens mikroszkópiával történik. A következő hullámhossz-tartományokhoz szükséges szűrőkészletekre van szükség:

Fluoreszkáló festék	Gerjesztés	Kibocsátás
ZyGreen	503 nm	528 nm
ZyOrange	547 nm	572 nm

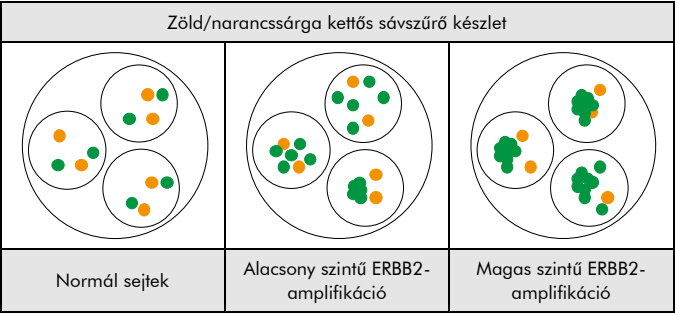
12. Az eredmények értelmezése

Megfelelő szűrőkészletek használatával a próba hibridizációs jelei zöld (ERBB2 génterület) és narancssárga (CEN 17) színűek.

Normál jelrendszer: A normál sejtek vagy az ERBB2 gén régióját érintő amplifikáció nélküli sejtek interfázisaiban két zöld és két narancssárga jel jelenik meg (lásd a 2. ábrát).

Rendellenes jelrendszer: Az ERBB2 gén régiójának amplifikációjával rendelkező sejtekben a zöld jelek vagy zöld jelklaszterek megnövekedett száma figyelhető meg (lásd a 2. ábrát).

Az egymást átfedő jelek sárga jelzésként jelenhetnek meg.



2. ábra: Várható eredmények normális és rendellenes sejtmagok esetén

Egyes rendellenes mintákban a fent leírtaktól eltérő jelminták is megfigyelhetők. Ezeket a váratlan jelmintákat tovább kell vizsgálni.

Kérjük, vegye figyelembe:

- A dekonzenzált kromatin miatt az egyes FISH-jelek kis jelhalmazokként jelenhetnek meg. Ezért két vagy három azonos méretű, ≤ 1 jelátmérővel elválasztott jelet egy jelnek kell tekinteni.
- Ne értékelje az egymást átfedő magokat.
- Ne számolja meg a túlságosan megemésztett sejtmagokat (a sejtmagok belsejében látható sötét területekről ismerhető fel).
- Ne számolja az erős autofluoreszcenciájú sejtmagokat, amelyek akadályozzák a jelfelismerést.
- A negatív vagy nem specifikus eredményt több tényező is okozhatja (lásd a 16. fejezet "Hibaelhárítás" című részét).
- Az eredmények helyes értelmezése érdekében a felhasználónak a nemzeti és/vagy nemzetközi irányelveknek megfelelően validálnia kell a terméket a diagnosztikai eljárásokban való felhasználás előtt.

13. Ajánlott minőségellenőrzési eljárások

A feldolgozott minták és a vizsgálati reagensok megfelelő teljesítményének ellenőrzése érdekében minden egyes vizsgálathoz belső és külső kontrollokat kell rendelni. Ha a belső és/vagy külső kontrollok nem mutatnak megfelelő festődést, a betegmintákkal kapott eredményeket érvénytelennek kell tekinteni.

Belső ellenőrzés: Nem neoplasztikus sejtek a mintán belül, amelyek normális jelmintázatot mutatnak, pl. fibroblasztok.

Külső vezérlés: Validált pozitív és negatív kontrollminták.

14. Teljesítményjellemzők

14.1 Analitikai teljesítmény

A teljesítményt a ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit használati utasítása szerint értékelték..

Analitikai érzékenység:	100% (95% CI 98.5 – 100.0)
Analitikai specifikusság:	100% (95% CI 97.0 – 100.0)

14.2 Klinikai teljesítmény

Diagnosztikai érzékenység:	Mellrák: 93% (95% CI 91.0 – 95.0) kétváltozós modell alapján Gyomorrák és a gastrooesophagealis átmenet rákja: 88% (95% CI 74.0 – 95.0) kétváltozós modell alapján
Diagnosztikai specifitás:	Mellrák: 98% (95% CI 97.0 – 99.0) kétváltozós modell alapján Gyomorrák és a gastrooesophagealis átmenet rákja: 95% (95% CI 92.0 – 97.0) kétváltozós modell alapján

15. Eltávolítás

A reagensok ártalmatlanítását a helyi előírásoknak megfelelően kell elvégezni.

16. Hibaelhárítás

A kezelési utasításoktól való bármilyen eltérés rosszabb festési eredményhez vagy egyáltalán nem festéshez vezethet. További információkért kérjük, olvassa el a www.zytovision.com/honlapot.

Gyenge jelek vagy egyáltalán nincs jel

Lehetséges ok	Javasolt teendő
Nem megfelelően rögzített sejt- vagy szövetszövetminta	Optimalizálja a rögzítési időt és a fixálószer, vagy alkalmazzon poszt-fixálási lépést a <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u> kézikönyvének "Assay procedure" részében leírtak szerint.
Nem megfelelően végzett proteolitikus előkezelés	Optimalizálja a pepszin inkubációs idejét, szükség esetén növelje vagy csökkentse azt.
Szonda párolgás	A hibridizáló használata esetén a nedves csíkok/vízzel töltött tartályok használata kötelező. Hibridizáló kemence használata esetén a páraakmra használata kötelező. Ezenkívül a fedőlemezt teljesen le kell zárni, pl. Fixogummal, hogy megakadályozzuk a minta kiszáradását a hibridizáció során.
Nem megfelelő szűrőkészletek használata	Használjon a szonda fluorokrómjainak megfelelő szűrőkészleteket. <i>A háromszoros sávszűrő-készletek kevesebb fényt biztosítanak az egy- vagy kétsávszűrő-készletekhez képest. Következésképpen a jelek halványabbnak tűnhetnek e háromsávú szűrőkészletek használatával.</i>

Kereszt hibridizációs jelek; zajos háttér

Lehetséges ok	Javasolt teendő
Nem teljes viaszmentesítés	Használjon friss oldatokat; ellenőrizze a viaszmentesítés időtartamát.
Túl erős proteolitikus előkezelés	Csökkentse a pepszin inkubációs idejét
A tárgylemezeket hibridizáció előtt szobahőmérsékletre kell hűteni.	A tárgylemezeket gyorsan helyezze át 37 °C-ra

Morfológia romlott

Lehetséges ok	Javasolt teendő
A sejt- vagy szövetmintát nem megfelelően rögzítették	Optimalizálja a rögzítési időt és a fixálószer, vagy alkalmazzon poszt-fixálási lépést a <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u> kézikönyvének "Assay procedure" részében leírtak szerint.
Nem megfelelően végzett proteolitikus előkezelés	Optimalizálja a pepszin inkubációs idejét, szükség esetén csökkentse azt.
Elégtelen szárítás a sonda felhelyezése előtt	A levegőn való szárítás idejének növelése

Átfedő magok

Lehetséges ok	Javasolt teendő
A szöveti metszetek nem megfelelő vastagsága	Készítsünk 2-4 µm-es mikrotomos metszeteket

A minta lebeg a tárgylemezről

Lehetséges ok	Javasolt teendő
Túl erős proteolitikus előkezelés	Csökkentse a pepszin inkubációs idejét

Gyenge ellenfesték

Lehetséges ok	Javasolt teendő
Alacsony koncentrációjú DAPI-oldat	Használjon helyette <u>DAPI/DuraTect-Solution (ultra)</u> (Prod. No. MT-0008-0.8).
Túl rövid DAPI inkubációs idő	A DAPI inkubációs idő beállítása

17. Irodalom

- Brockhoff G, et al. (2016) *Histopathology* 69: 635-646.
- Gajaria PK, et al. (2020) *Indian J Pathol Microbiol* 63: 1
- Hwang CC, et al. (2011) *Histopathology* 59: 984-992.
- Holten-Rossing H, et al. (2015) *Breast Cancer Res Treat* 152: 367-375.
- Jensen SG, et al. (2020) *Apmis* 128: 573-582.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Köseoglu RD, et al. (2019) *Eur J Breast Health* 15: 43.
- Nielsen SL, et al. (2017) *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 25: 320-328.
- Page R, et al. (2022) *PloS one* 17(6): e0270139
- Pfarr N, et al. (2017) *Genes Chromosomes Cancer* 56: 255-265.
- Schindlbeck C, et al. (2010) *J Cancer Res Clin Oncol* 136: 1029-1037.
- Staněk L, et al. (2014) *Mol Med Rep* 10: 2669-2674.
- Tabarestani S, et al. (2015) *Asian Pac J Cancer Prev* 16: 7997-8002.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, *Oxford University Press* (1992) ISBN 0 19 963327 4.

18. Felülvizsgálat
www.zytovision.com

A legfrissebb használati utasításokat, valamint a különböző nyelvű használati utasításokat a www.zytovision.com oldalon találja.

Szakértőink készséggel válaszolnak kérdéseire.

Kérjük vegye fel velünk a kapcsolatot a helptech@zytovision.com címen.

A biztonságról és a teljesítményről szóló összefoglalót lásd a következő oldalon www.zytovision.com.



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Németország
Telefon: +49 471 4832-300
Fax: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
E-mail: info@zytovision.com

Védjegyek:

A ZytoVision® és a ZytoLight® a ZytoVision GmbH védjegyei.