



ZytoLight

SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit

REF Z-2020-5 Σ 5

REF Z-2020-20 Σ 20

Pro kvalitativní detekci amplifikací lidského ERBB2 genu a alfa satelitů chromozomu 17 fluorescenční *in situ* hybridizací (FISH)



Prostředek pro lékařskou *in vitro* diagnostiku
V souladu s EU nařízením 98/79/EC

1. Použití

ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit je určen k použití pro kvalitativní detekci detekci amplifikací lidského ERBB2 genu a alfa satelitů chromozomu 17 formalinem fixovaných, v parafínech zalitých vzorků jako je lidský karcinom prsu nebo karcinom žaludku metodou fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH).

Interpretace výsledků musí být prováděna kvalifikovaným patologem, v kontextu s klinickou historií pacienta a s ohledem na ostatní klinické a patologické nálezy.

2. Klinický význam

Gen ERBB2 (známý jako HER2 a NEU) je umístěn v chromozomální oblasti 17q12 a kóduje transmembránový glykoprotein p185 o 185-190 kDa, který působí jako receptor buněčného růstového faktoru. Protein p185 patří do podskupiny EGFR (receptor epidermálního růstového faktoru) superrodiny RTK (receptor tyrosinkinázy), včetně EGFR (ERBB1), ERBB3 (HER3) a ERBB4 (HER4). Amplifikace protoonkogenu ERBB2 pozorovaná u přibližně 20% všech vzorků rakoviny prsu, korelovala se špatnou prognózou nemoci. Podobné výsledky byly získány pro řadu dalších maligních novotvarů, např. rakoviny vaječníků, rakoviny žaludku a karcinomů slinných žláz.

3. Princip testu

Fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) je technika, která umožňuje detekci a vizualizaci specifických sekvencí nukleových kyselin v buněčných preparátech. Fluorescenčně označené úseky DNA, tzv. FISH próby, a jejich komplementární cílové úseky DNA v preparátech jsou společně denaturovány a následně je umožněno jejich spárování v průběhu hybridizace. Poté jsou nespecifické a nenavázané fragmenty prób odstraněny pomocí důkladných oplachovacích kroků. Po dobarvení DNA pomocí DAPI jsou hybridizované úseky DNA vizualizovány pomocí fluorescenčního mikroskopu vybaveného excitačními a emisními filtry specifickými pro fluorochromy, se kterými byly FISH próby označeny.

4. Pořebné reagenty

ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit se skládá z:

Kód	Složka	Množství		Nádoba
		5	20	
PT1	<u>Heat Pretreatment Solution Citric</u>	150 ml	500 ml	Láhev se šroubovacím uzávěrem (velká)
ES1	<u>Pepsin Solution</u>	1 ml	4 ml	Kapátko Bílé víčko
WB1	<u>Wash Buffer SSC</u>	210 ml	560 ml	Láhev se šroubovacím uzávěrem (velká)
PL8	<u>ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe</u>	0.05 ml	0.2 ml	Reakční nádoba, červené víčko
WB2	<u>25x Wash Buffer A</u>	50 ml	2x50 ml	Láhev se šroubovacím uzávěrem (střední)
MT7	<u>DAPI/DuraTect-Solution</u>	0.2 ml	0.8 ml	Reakční nádoba, modré víko
	Návod k použití	1	1	

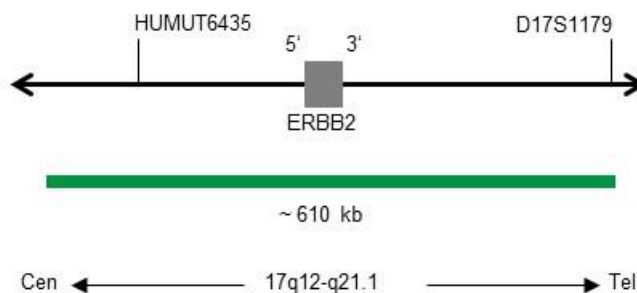
Z-2020-5 (5 testů): Složky **ES1**, **PL8** a **MT7** jsou dostatečné pro 5 reakcí. Složka **WB2** je dostačující pro 5x3 barvicích nádob po 70 ml. Složka **PT1** postačuje pro 2 barvicí sklenice po 70 ml. Složka **WB1** postačuje pro 3 barvicí sklenice po 70 ml.

Z-2020-20 (20 testů): Složky **ES1**, **PL8** a **MT7** jsou dostatečné pro 20 reakcí. Složka **WB2** je dostatečná pro 11x3 barvicí sklenice po 70 ml. Složka **PT1** postačuje pro 7 barvicích nádob po 70 ml. Složka **WB1** postačuje pro 8 barvicích sklenic po 70 ml.

ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (PL8) se skládá z:

- ZyGreen (excitace 503 nm/ emise 528 nm) označené polynukleotidy (~10.0 ng/μl), s cílovými sekvencemi v 17q12-q21.1* (chr17:37,572,531-38,181,308) nesoucí oblast genu ERBB2 (viz Obr.1).
- ZyOrange (excitace 547 nm/ emise 572 nm) označené polynukleotidy (~1.5 ng/μl), s cílovými sekvencemi v 17p11.1-q11.1 specifický pro alfa satelitní centromerickou oblast D17Z1 chromozomu 17.
- Hybridizační pufr založený na formamidu

* V souladu s knihovnou lidského genomu GRCh37/hg19



Obr. 1: SPEC ERBB2 Mapa sondy (mimo měřítka)

5. Vybavení, které je vyžadováno, ale není součástí dodávky

- ZytoLight FISH probe
- Pozitivní a negativní kontrolní vzorky
- Mikroskopická sklíčka, pozitivně nabitá
- Vodní lázeň (37°C, 98°C)
- Hybridizér nebo vyhřívaná ploténka
- Hybridizér nebo vlhká komůrka v hybridizační troubě
- Pipety (10 μl, 25 μl)
- Stopky
- Barvicí nádoby nebo lázně
- Kalibrováný teploměr
- Xylen
- Ethanol (alkohol)
- Deionizovaná nebo destilovaná voda
- Krycí sklíčka (22 x 22 mm, 24 x 60 mm)
- Lepidlo, např. Fixogum Rubber Cement (Katalog.č. E-4005-50/-125) nebo podobné

- Fluorescenční mikroskop s odpovídajícím vybavením (400 - 1000x)
- Imerzní olej určený pro fluorescenční mikroskop
- Odpovídající sada filtrů

6. Skladování a zacházení

Skladujte při teplotě 2-8 °C, ve vzpřímené pozici, chráněné před sluncem. Stejně tak musí být roztok DAPI / DuraTect (MT7) a roztok sondy (PL8) chráněny před světlem. Používejte chráněné před sluncem. Vraťte do skladovacích podmínek okamžitě po použití. Nepoužívejte reagentie po uplynutí doby expirace uvedené na štítku.

7. Varování a preventivní opatření

- Před použitím si přečtěte instrukce!
- Nepoužívejte reagentie po uplynutí doby expirace!
- Tento produkt obsahuje látky (v nízkých koncentracích a objemech), které jsou škodlivé pro zdraví a potenciálně infekční. Vyvarujte se přímého kontaktu s reagentiemi. Používejte přiměřené ochranné prostředky (jednorázové rukavice, ochranné brýle a laboratorní plášť).
- V případě kontaktu s kůží omyjte okamžitě velkým množstvím vody!
- Pro profesionální uživatele je na vyžádání dostupný bezpečnostní list.
- Nepoužívejte reagentie opakovaně.
- Vyvarujte se vzájemné kontaminace vzorů, neboť to může vést k chybným výsledkům.
- Sonda (PL8) a DAPI / DuraTect-Solution (MT7) by neměly být po delší dobu vystaveny světlu, zejména silnému světlu, tj. pokud je to možné, měly by být všechny kroky prováděny ve tmě a / nebo pomocí lehkých obalů..

Rizika pro PL8

Složka určující riziko je formamid.



Nebezpečí

H351	Podezření na vyvolání rakoviny.
H360FD	Může poškodit reprodukční schopnost. Může poškodit plod v těle matky.
H373	Může způsobit poškození orgánů při prodloužené nebo opakované expozici.
P201	Před použitím si obzarejte speciální instrukce.
P202	Nepoužívejte, dokud jste si nepřčetli všechny bezpečnostní pokyny a neporozuměli jim.
P260	Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly.
P280	Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
P308+P313	PŘI expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
P405	Skladujte uzamčené.

Rizika pro PT1, WB1, a WB2:

Složka určující nebezpečí je směsí: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-onu [EC no. 247-500-7] a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu [EC no. 220-239-6] (3: 1).



Varování

H317	Může vyvolat alergickou kožní reakci.
P261	Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů.
P272	Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště.
P280	Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
P302+P352	PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody.
P333+P313	Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
P362+P364	Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte.

8. Omezení

- Pouze pro *in vitro* diagnostiku.
- Pouze pro profesionální uživatele.
- Klinická interpretace jakéhokoliv pozitivního barvení nebo jeho chybění musí být hodnocena v kontextu klinické historie, morfologie, ostatních histopatologických kritérií a stejně tak i ostatních diagnostických testů. Je odpovědností kvalifikovaného patologa být obeznámený s FISH próbami, reagentiemi, diagnostickými panely a metodami používanými k barvení preparátů. Barvení musí být prováděno v certifikované, licencované laboratoři pod dozorem patologa, který je odpovědný za prohlížení obarvených skel a vyhodnocení odpovídajících pozitivních a negativních kontrol.
- Barvení preparátu, obzvláště intenzita a barvení pozadí závisí na zacházení se vzorkem před barvením. Neodpovídající fixace, mražení, tání, oplachování a sušení, var, krájení nebo kontaminace jinými vzorky nebo tekutinami může vést k artefaktům nebo falešným výsledkům. Nekonzistentní výsledky mohou být výsledkem variací ve fixaci a prosycovacích metodách, stejně tak jako nepravidelnostmi uvnitř vzorku.
- Průba má být používána pouze pro detekci lokusů popsaných v odstavci 4.
- Barvení bylo validováno za použití metod popsaných v těchto instrukcích pro použití. Obměny těchto procedur mohou vést ke změnám barvení a mají být validovány uživatelem.

9. Interferující látky

Pokud jsou ve vzorku přítomny červené krvinky, mohou jevit autofluorescenci, která ztěžuje detekci hledaných signálů

Následující fixační tekutiny jsou nekompatibilní (nevhodné) pro FISH:

- Bouinův roztok
- B5 fixace
- Kyselá fixativa (např. kys. pikrová)
- Zenkerova fixační tekutina
- Alkoholy (pokud jsou používány samostatně)
- Chlorid rtuti
- Formaldehyd/zinkové fixativum
- Hollandovo fixativum
- Nepufrovaný formalin

10. Příprava vzorků

- Fixace v 10% neutrálním pufrovaném formalínu po dobu 24h při pokojové teplotě (18-25°C).
- Připravte tkáňové vzorky $\leq 0,5 \text{ m}^3$.
- Používejte parafin nejvyšší (prémiové) kvality.
- Prosycení by mělo být prováděno při teplotě nižší než 65°C.
- Připravte řezy o tloušťce 2-4 μm .
- Používejte pozitivně nabitá skla.
- Fixujte po dobu 2-16h při teplotě 50-60°C.

11. Příprava před použitím

25x Wash Buffer (WB2) se musí předem ošetřit podle pokynů v 12. „Postup zkoušky“. Všechna ostatní činidla soupravy jsou připravena k použití. Není nutná žádná rekonstituce, míchání nebo ředění. Před použitím přineste průbu do pokojové teploty (18-25 °C), chráňte před světlem. Před otevřením nádoby promíchejte krátce ve vortexu a stočte.

12. Pracovní postup

12.1 Den 1

Připravte kroky

- (1) *Připravte dvě série ethanolu (70%, 90% a 100% roztoky ethanolu):* 100% ethanol zředte deionizovanou nebo destilovanou vodou. Tato řešení mohou být skladována ve vhodných nádobách a mohou být znovu použita.
- (2) *Heat Pretreatment Solution Citric (PT1):* zahřátý na 98 °C.
- (3) *Wash Buffer SSC (WB1):* Přiveďte na pokojovou teplotu (RT).
- (4) *Sonda ZytoLight FISH:* Před použitím přiveďte na RT, chráňte před světlem.

Volitelné, když provádíte post-fixační kroky:

(důrazně se doporučuje, pokud není fixace tkáně optimální)

Připravte 1% roztok formaldehydu pomocí sady pufrů na ředění formaldehydu (PT-0006-100)

Předúprava (vosk / proteolýza)

- (1) Inkubujte sklíčka po dobu 10 minut při 70 °C (např. na horké plotně).
- (2) Inkubujte sklíčka 2 x 10 minut v xylenu.
- (3) Inkubujte ve 100%, 100%, 90% a 70% ethanolu, každý po dobu 5 minut.
- (4) Promyjte 2x 2 minuty v deionizované nebo destilované vodě.
- (5) Inkubujte po dobu 15 minut v předehřátém Heat Pretreatment Solution Citric (PT1) při 98 °C.

Doporučujeme nepoužívat více než osm sklíček na barvicí nádobu.

- (6) Okamžitě přeneste sklíčka do deionizované nebo destilované vody, promyjte 2x 2 minuty a vypusťte nebo vymažte vodu.
- (7) Naneste (po kapkách) Pepsin Solution (ES1) na vzorky a inkubujte po dobu 15 minut při 37 °C ve vlhké komoře.

V závislosti na více faktorech, např. povaha a trvání fixace, tloušťka řezů a povaha tkáně / buněk, mohou být vyžadovány různé doby inkubace. Jako pokyny pro inkubaci doporučujeme inkubační dobu 2-30 minut pro vzorky tkáně a 2-15 minut pro vzorky buněk. Obecně se v předběžných testech doporučuje zjistit optimální čas pro proteolýzu.

- (8) Promývání po dobu 5 minut v Wash Buffer SSC (WB1).

Volitelné, když provádíte krok po fixaci:

Inkubujte sklíčka po dobu 15 minut v 1% roztoku formaldehydu a následně promývejte po dobu 5 minut v Wash Buffer SSC (WB1)

- (9) Promývejte 1 minutu v deionizované nebo destilované vodě
- (10) Dehydratace: v 70%, 90% a 100% ethanolu, každá po dobu 1 minuty
- (11) Sekce suché na vzduchu.

Poznámka: Před aplikací sondy se ujistěte, že jste zcela vysušili řezy, protože zbytková vlhkost může snížit intenzitu signálu nebo ovlivnit morfologii tkáně.

Denaturace a hybridizace

1. Napipetujte 10 µl ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (PL8) na každý předpřipravený vzorek.
2. Přikryjte vzorky krycím sklíčkem 22 mm x 22 mm (vyvarujte se vytvoření bublin) a zalepte krycí sklíčko.

Doporučujeme použít speciální lepidlo např. Fixogum.

3. Umístěte skla na horkou plotěnku nebo do hybridizéru a denaturujte vzorky 10 min při 75°C.
4. Přeneste skla do vlhké komůrky nebo hybridizujte přes noc při 37 °C (např. v hybridizační troubě).

Je zcela zásadní, aby vzorky v průběhu hybridizačního kroku nevyšly.

12.2 Den 2

Připravte kroky

- (1) *Příprava 1x Wash Buffer A:* Zředte 1 díl 25x Wash Buffer A (WB2) s 24 díly deionizované nebo destilované vody. Naplňte tři barvicí sklenice 1x promývacím pufr A a předehřejte jej na 37 °C.
- (2) DAPI/DuraTect-Solution (MT7): Před použitím nechte vytemperovat na pokojovou teplotu, chráňte před světlem.

Post-hybridizace a detekce

- (1) Opatrně odstraňte gumový cement nebo lepidlo.
- (2) Odstraňte krycí sklíčko ponořením do 1x Wash Buffer A při 37 °C po dobu 1-3 min.
- (3) Promývání pomocí 1x Wash Buffer A po dobu 2 x 5 minut při 37 °C.

1x promývací pufr A by měl být předehřátý. V případě potřeby zkontrolujte teplotu.

- (4) Inkubujte sklíčka v 70%, 90% a 100% ethanolu, každý po dobu 1 minuty.
- (5) Vzorky chráňte před světlem na vzduchu.
- (6) Napipetujte 25 µl DAPI/DuraTect-Solution (MT7) na podložní sklíčko. Aby se zabránilo zachycení bublin, přikryjte vzorky krycím sklíčkem (24 mm x 60 mm). Inkubujte ve tmě po dobu 15 minut.

Použitím pipetovací špičky, která byla odříznuta pro zvětšení velikosti otvoru, může být pipetovací proces snazší. Vyvarujte se dlouhodobému působení světla.

- (7) Sklíčko uložte do tmy. U delších skladovacích období skaldujte při 2-8 °C.
- (8) Vyhodnocení materiálu vzorku se provádí fluorescenční mikroskopií. Vyžadují se sady filtrů pro následující rozsahy vlnových délek:

Fluorescenční barvivo	Excitace	Emise
ZyGreen	503 nm	528 nm
ZyOrange	547 nm	572 nm

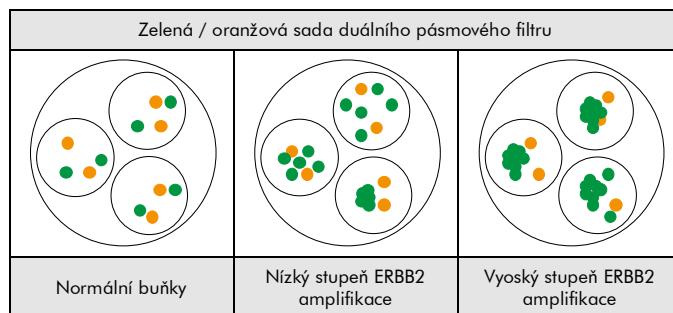
13. Interpretace výsledků

Při použití vhodných sad filtrů se hybridizační signály sondy objeví zeleně (oblast genu ERBB2) a oranžově (CEN 17).

Normální situace: V interfázích normálních buněk nebo buněk bez amplifikace zahrnující oblast genu ERBB2 se objevují dva zelené a dva oranžové signály (viz obrázek č.2).

Abnormální situace: V buňkách s amplifikací oblastí genu ERBB2 bude pozorován zvýšený počet zelených signálů nebo skupin zelených signálů (viz obrázek č.2).

Překrývající se signály se mohou objevit jako žluté signály.



Obr. Č. 2 : Předpokládaný normální výsledek a abnormální jádra

Jiná distribuce (rozmístění) signálů může být pozorována v některých abnormálních vzorcích, která může vést ve výsledku k jinému vzoru signálů, než jsou popsány výše, indikující variantní přestavby. Nečekané vzory signálů by měly být dále dovyšetřeny.

Vemte v potaz:

- Kvůli rozvolněnému chromatinu se mohou jednotlivé signály jevit jako malé shluky signálů. A proto dva nebo tři signály stejné velikosti, které jsou ve vzdálenosti, která je menší než průměr jednoho signálu, mají být počítány jako jeden signál.
- Nehodnoťte překrývající se jádra.

- Nepočítejte příliš natrávená jádra (rozpoznatelná podle přítomnosti tmavých oblastí uvnitř jader).
- Nepočítejte jádra se silnou autofluorescencí, která znesnadňuje rozpoznání signálů.
- Negativní nebo neočekávaný výsledek může být způsoben vícečetnými faktory, viz odst. 17.
- Za účelem správného hodnocení výsledků musí uživatel před použitím produktu provést validaci v souladu s národními a/nebo mezinárodními doporučeními.

14. Doporučené postupy kontroly kvality

Za účelem zajištění správných postupů má být ke každému testu přiřazena vnitřní a vnější kontrola. Pokud tyto kontroly selžou při demonstraci správného barvení, výsledky vzorku pacienta musí být hodnoceny jako invalidní.

Vnitřní kontrola: Nenádorové buňky uvnitř vzorku, ve kterých je patrný normální vzor signálů.

Externí kontrola: Ověřené (validované) pozitivní a negativní kontrolní vzorky.

15. Výkonnostní charakteristiky

Přesnost: Místo hybridizace sondy bylo hodnoceno na metafázových spreadech karyotypově normálního samce. Ve všech testovaných vzorcích hybridizovala sonda pouze očekávané lokusy. Nebyly pozorovány žádné další signály nebo křížové hybridizace. Proto byla vypočítána přesnost na 100%.

Analytická citlivost: Pro analytické stanovení citlivosti byla sonda vyhodnocena na metafázových spreadech karyotypicky normálních samců. Všechna jádra ukázala očekávaný normální signál ve všech testovaných vzorcích. Analytická citlivost byla proto vypočtena na 100%.

Analytická specifita: Pro stanovení analytické specifity byla sonda vyhodnocena na metafázových spreadech karyotypicky normálních samců. Ve všech testovaných vzorcích hybridizovaly všechny signály pouze s očekávanými cílovými lokusy a žádnými jinými lokusy. Analytická specifita byla proto vypočtena na 100%.

16. Likvidace odpadů

Likvidace reagentů musí být provedena v souladu s lokálními zákony.

17. Řešení problémů

Jákačkoliv odchylka od návodu k obsluze může vést k horším výsledkům barvení nebo k žádnému znečištění.

Slabé nebo vůbec žádné signály

Možná příčina	Řešení
Žádné dostupné cílové sekvence	Použijte vhodnou kontrolu.
Buňky nebo tkáň nebyly fixovány správně	Optimalizujte dobu fixace a fixační nebo použijte krok po fixaci, jak je popsáno v „12. Postup zkoušky“.
Nesprávná příprava teplem, natrávení, denaturace, hybridizace nebo teplota oplachu	Zkontrolujte teplotu u vše zařízení, u kterých je kalibrovaný teploměr
Proteolytická předběžná úprava není řádně provedena	Optimalizujte inkubační dobu pepsinu, Zvyšte nebo snižte.
Odpařování sondy	Při použití hybridizéru, je nutné použít mokré proužky / nádrže naplněné vodou. Při použití hybridizační pece, vhlké komoty, by mělo být krycí sklíčko zcela uzavřené, např. Fixogum, aby se zabránilo vysychání vzorků během hybridizace

Příliš nízká koncentrace promývacího pufru	Zkontrolujte koncentraci <u>Wash Buffer A</u>
Staré odvodňovací roztoky	Připravte čerstvé odvodňovací roztoky.
Špatné nastavení fluorescenčního mikroskopu	Nastavte správně
IPoužití nesprávného setu filtrů	Použijte set filtrů, které jsou odpovídající fluochromům próby. <i>Trojité filtry poskytují méně světla v porovnání s jednoduchými nebo duálními filtry. Navíc signály se mohou při použití trojitého filtru jevit bledší.</i>
Poškození próby světlem	Hybridizační a promývací kroky provádějte ve tmě.

Zkřížené hybridizační signály, šum na pozadí

Možná příčina	Řešení
Nekompletní odparafinování	Používejte čerstvé roztoky; zkontrolovat délku odparafinování
Příliš silné natrávení	Zkratejte inkubaci s pepsinem.
Příliš velký objem próby na plochu vzorku	Snižte objem próby na řez, rozmístujte prouby po kapkách, abyste se vyhnuli příliš vysoké místní koncentraci.
Preparáty jsou vychladlé na pokojovou teplotu před hybridizací	Přeneste preparáty krátce do 37 °C
Příliš vysoká koncentrace promývacího pufru	Zkontrolujte koncentraci <u>Wash Buffer A</u> .
Oplachovací teplota po hybridizaci je příliš nízká	Zkontrolujte teplotu a zvyšte ji, pokud je to nutné
Vysušení vzorků mezi jednotlivými kroky inkubace	Zabraňte vysušení pomocí přilepení krycího sklíčka a provádění inkubace ve vlhkém prostředí.

Poškozená morfologie

Možná příčina	Řešení
Buňky nebo tkáň nebyly fixovány správně	Optimalizujte dobu fixace a fixační nebo použijte krok po fixaci, jak je popsáno v „12. Postup zkoušky“.
Příprava natrávením není provedena správně	Optimalizujte dobu inkubace s pepsinem, zkratejte nebo prodlužte, je-li potřeba
Nedostatečné oschnutí preparátu na vzduchu před aplikací próby	Prodlužte osušení.

Překrývání jader

Možná příčina	Řešení
Nevhodná tloušťka tkáňových řezů	Připravte 2-4 μm microtomové řezy.

Vzorek uplavává ze sklíčka

Možná příčina	Řešení
Nevhodný povrch sklíčka	Použijte vhodná sklíčka.
Natrávení je příliš silné	Snižte inkubační dobu pepsinu

Slabé barvení

Možná příčina	Řešení
Nízká koncentrace roztoku DAPI	Používejte DAPI/DuraTect-Solution (ultra) (Prod. No. MT-0008-0.8)
Příliš krátká doba inkubace	Prodlužte dobu inkubace s DAPI.

18. Literatura

- Baselga J, et al. (1999) *Semin Oncol* 26: 78-83.
- Brunello E, et al. (2012) *Histopathology* 60: 482-8.
- Brunner K, et al. (2010) *Anal Quant Cytol Histol* 32: 78-89.
- Cochet A, et al. (2012) *J Nucl Med* 53: 512-20.
- Coussens L, et al. (1985) *Science* 230: 1132-9.
- Ettl T, et al. (2012) *Hum Pathol* 43: 921-31.
- Ettl T, et al. (2012) *Br J Cancer* 106: 719-26.
- Fasching P, et al. (2011) *BMC Cancer* 11: 486.
- Haas M, et al. (2011) *Virchows Arch* 458: 403-11.
- Hillig T, et al. (2012) *APMIS* 120: 1000-7.
- Humbert O, et al. (2012) *Ann Oncol* 23: 2572-7.
- Hwang CC, et al. (2011) *Histopathology* 59: 984-92.
- Hynes NE & Stern DF (1994) *Biochim Biophys Acta* 1198: 165-84.
- Jäger M, et al. (2009) *Cancer Res* 69: 4270-6.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Lang D, et al. (2008) *Diagn Pathol* 3: 49ff.
- Lehmann-Che L, et al. (2011) *Br J Cancer* 104: 1739-46.
- Ly M, et al. (2012) *Oncology* 83: 257-63.
- Moelans CB, et al. (2011) *Crit Rev Oncol Hematol* 80: 380-92.
- Oliveira-Costa JP, et al. (2011) *Diagn Pathol* 6: 73.
- Park JB, et al. (1989) *Cancer Res* 49: 6605-9.
- Parris TZ, et al. (2010) *Clin Cancer Res* 16: 3860-74.
- Perrone G, et al. (2012) *PLoS One* 7: e43110.
- Popescu NC, et al. (1989) *Genomics* 4: 362-6.
- Sassen A, et al. (2008) *Breast Cancer Res* 10: R2.
- Sassen A, et al. (2009) *Breast Cancer Res* 11: R50.
- Schindlbeck C, et al. (2010) *J Cancer Res Clin Oncol* 136: 1029-37.
- Slamon DJ, et al. (1987) *Science* 235: 177-82.
- Vollmann-Zwerenz A, et al. (2010) *Cytometry Part A* 77: 387-99.
- Voutsas IF, et al. (2013) *Int J Radiat Biol* 89: 319-25.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

Naši experti jsou Vám k dispozici zodpovědět Vaše otázky. Prosím kontaktujte helptech@zytovision.com



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

Ochranná známka:

ZytoVision® a ZytoLight® jsou pod ochrannou známkou ZytoVision GmbH.