



ZytoDot 2C CISH Implementation Kit

REF C-3044-10 Σ 10

REF C-3044-40 Σ 40

Til procedurer med kromogen *in situ*-hybridisering (CISH)

4250380N717V



Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik

i henhold til IVDR (EU) 2017/746

1. Anvendelsesformål

ZytoDot 2C CISH Implementation Kit er beregnet til brug i kombination med digoxigenin-/dinitrophenylmærkede ZytoDot 2C CISH-prober til formalinfikserede, paraffinindstøbte prøver med kromogen *in situ*-hybridisering (CISH).

Produktet må kun anvendes af faguddannet personale. Alle test med produktet skal udføres af faguddannet personale på et certificeret, godkendt patolog-anatomisk laboratorium under supervision af en patolog/humangenetiker.

2. Testprincip

Med CISH-teknikken (kromogen *in situ*-hybridisering) kan specifikke nukleinsyreskvenser i cellepræparater påvises og visualiseres. Haptenmærkede nukleotidfragmenter, såkaldte CISH-prober, og deres komplementære målsekvenser i præparaterne co-denatureres og renatureres efterfølgende under hybridisering. Derefter fjernes uspecifikke og ubundne probefragmenter med stringent vasketrin. Duplexdannelse af den mærkede probe kan visualiseres med primære (umærkede) antistoffer, der påvises med sekundære polymeriserede enzymkonjugerede antistoffer. Den enzymatiske reaktion med kromogene substrater fører til dannelse af farvede præcipitater. Efter kontrastfarvning af kernen med en kernefarve visualiseres hybridiserede probefragmenter med lysmikroskopi.

3. Leverede reagenser

ZytoDot 2C CISH Implementation Kit fås i to størrelser og består af:

Kode	Komponent	Mængde		Beholder
		40 Σ	10	
PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	500 ml	150 ml	Flaske med skruelåg (stor)
ES1	Pepsin Solution	4 ml	1 ml	Pipetteflaske, hvidt låg
WB1	Wash Buffer SSC	560 ml	210 ml	Flaske med skruelåg (stor)
WB5	20x Wash Buffer TBS	2x 50 ml	50 ml	Flaske med skruelåg
AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	4 ml	1 ml	Pipetteflaske, gult låg
AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	4 ml	1 ml	Pipetteflaske, blåt låg
SB6a	AP-Red Solution A	0,4 ml	0,1 ml	Pipetteflaske, rødt låg (lille)
SB6b	AP-Red Solution B	15 ml	4 ml	Pipetteflaske, rødt låg
SB7a	HRP-Green Solution A	0,8 ml	0,2 ml	Pipetteflaske, grønt låg (lille)
SB7b	HRP-Green Solution B	15 ml	4 ml	Pipetteflaske, grønt låg
CS2	Nuclear Blue Solution	20 ml	4 ml	Flaske med skruelåg, sort
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	1 ml	Glasflaske, brun
	AP-Red-reaktionsbeholder	2	1	Måleglas, rødt låg
	HRP-Green-reaktionsbeholder	2	1	Måleglas, grønt låg
	Brugsanvisning	1	1	

C-3044-10 (10 test): Komponenterne **ES1**, **AB14**, **AB13**, **SB6a-b**, **SB7a-b**, **CS2** og **MT4** er tilstrækkelige til 10 reaktioner. Komponenten **PT2** er tilstrækkelig til 2 farvebeholdere af 70 ml hver. Komponenten **WB1** er tilstrækkelig til 3 farvebeholdere af 70 ml hver. Komponenten **WB5** er tilstrækkelig til 14 farvebeholdere af 70 ml hver.

C-3044-40 (40 test): Komponenterne **ES1**, **AB14**, **AB13**, **SB6a-b**, **SB7a-b**, **CS2** og **MT4** er tilstrækkelige til 40 reaktioner. Komponenterne **PT2** er tilstrækkelig til 7 farvebeholdere af 70 ml hver. Komponenten **WB1** er tilstrækkelig til 8 farvebeholdere af 70 ml hver. Komponenten **WB5** er tilstrækkelig til 28 farvebeholdere af 70 ml hver.

4. Nødvendige materialer, der ikke medfølger

- ZytoDot 2C CISH-probe
- Positive og negative kontrolprøver
- Objektglas, positivt ladet
- Vandbad (80 °C, 98 °C)
- Hybridizer eller varmeplade
- Hybridizer eller fugtighedskammer i hybridiseringsovn
- Justerbare pipetter (10 μ l, 1000 μ l)
- Farvebeholdere eller -bade
- Timerur
- Kalibreret termometer
- Ethanol eller reagensalkohol
- Xylen
- Methanol 100 %
- Hydrogenperoxid (H₂O₂) 30 %
- Afioniseret eller destilleret vand
- Coverslips (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Gummiment, f.eks. Fixogum Rubber Cement (prod. nr. E-4005-50/-125) eller tilsvarende
- Tilstrækkeligt vedligeholdt lysmikroskop (400-630x)

5. Opbevaring og håndtering

Opbevares lodret ved 2-8 °C. Returneres til opbevaring umiddelbart efter brug. Reagenserne må ikke anvendes efter udløbsdatoen, som er angivet på etiketten. Produktet er stabilt indtil udløbsdatoen, som er angivet på etiketten, når det behandles korrekt.

6. Advarsler og forsigtighedsregler

- Læs brugsanvisningen før brug!
- Brug ikke reagenserne efter udløbsdatoen!
- Dette produkt indeholder stoffer (i lave koncentrationer og små mængder), som er sundhedsskadelige. Undgå direkte kontakt med reagenserne. Tag de nødvendige forholdsregler (brug engangshandsker, sikkerhedsbriller og laboratoriekitter)!
- Rapportér alle alvorlige hændelser i forhold til produktet til producenten og den kompetente myndighed i henhold til lokale regler!
- Hvis reagenserne kommer i kontakt med huden, skal der straks skylles med rigelige mængder vand!
- Der kan rekvireres et sikkerhedsdatablad til faguddannede brugere.
- Reagenserne må ikke genbruges, medmindre det udtrykkeligt er tilladt!
- Undgå krydskontaminering af prøver, da det kan føre til forkerte resultater.
- Prøverne må ikke tørre ud under hybridiserings- og vasketrinene.

Fare- og sikkerhedssætninger for AB13, AB14, PT2, SB7b, WB1 og WB5:

Den farebestemmende komponent er en reaktionsmasse af: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EF nr. 247-500-7] og 2-methyl-2H-isothiazol-3-one [EF nr. 220-239-6] (3:1).



Advarsel

H317	Kan forårsage allergisk hudreaktion.
P261	Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray.
P272	Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen.
P280	Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
P302+P352	VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt vand.
P333+P313	Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp.
P362+P364	Forurenede tøj tages af og vaskes, før det bruges igen.

Fare- og sikkerhedssætninger for SB7a:

De farebestemmende komponenter er metanol og brintoverilte 30 %.



Fare

H225	Meget brandfarlig væske og damp.
H301+H311+H331	Giftig ved indtagelse, ved hudkontakt og ved indånding.
H370	Forårsager organskader.
P210	Holdes væk fra varme/gnister/åben ild/varme overflader og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
P233	Emballagen skal holdes tæt lukket.
P260	Indånd ikke pulver/røg/gas/tåge/damp/spray.
P280	Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
P308+P311	VED eksponering eller mistanke om eksponering: Ring til et GIFTCENTER/en læge.
P403+P235	Opbevares på et godt ventileret sted. Opbevares køligt.

Fare- og sikkerhedssætninger for CS2:

Den farebestemmende komponent er ethandiol, ethylenglycol.



Advarsel

H373	Kan forårsage nyreskader ved længerevarende eller gentagen eksponering ved indtagelse.
P260	Indånd ikke pulver/røg/gas/tåge/damp/spray.
P314	Søg lægehjælp ved ubehag.

Fare- og sikkerhedssætninger for MT4:

Den farebestemmende komponent er xylen.



Advarsel

H226	Brandfarlig væske og damp.
H312+H332	Farlig ved indånding og ved hudkontakt.
H315	Forårsager hudirritation.
H319	Forårsager alvorlig øjenirritation.
H335	Kan forårsage irritation af luftvejene.
H373	Kan forårsage organskader ved længerevarende eller gentagen eksponering.
P210	Holdes væk fra varme/gnister/åben ild/varme overflader og andre antændelseskilder. Rygning forbudt.
P260	Indånd ikke pulver/røg/gas/tåge/damp/spray.
P280	Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
P305+P351+P338	VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.
P337+P313	Ved vedvarende øjenirritation: Søg lægehjælp.
P403+P235	Opbevares på et godt ventileret sted. Opbevares køligt.
EUH208	Indeholder methyl 2-methylprop-2-enoat; methyl 2-methylpropenoat; methylmethacrylat. Kan udløse en allergisk reaktion.

Fare- og sikkerhedssætninger for SB6a:

H412	Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.
P273	Undgå udledning til miljøet.

Specialmærkning af ES1:

EUH208	Indeholder Pepsin A. Kan udløse en allergisk reaktion.
EUH210	Der kan rekvireres et sikkerhedsdatablad.

7. Begrænsninger

- Til *in vitro*-diagnostisk brug.
- Må kun anvendes af faguddannet personale.
- Kun til ikke-automatisk brug.
- Den kliniske fortolkning af positiv farvning eller fravær af positiv farvning skal udføres på baggrund af klinisk anamnese, morfologi, andre histopatologiske kriterier samt andre diagnostiske test. Det er en kvalificeret patolog/humangenetikers ansvar at være bekendt med de ISH-prober, reagenser, diagnostikpaneler og metoder, som anvendes til at producere det farvede præparat. Farvning skal udføres på et certificeret, godkendt laboratorium under supervision af en patolog/humangenetiker, som er ansvarlig for at gennemgå de farvede objektglas og sikre, at der er tilstrækkeligt med positive og negative kontroller.
- Farvningen af prøver, især signalintensitet og baggrundsfarvning, er afhængig af håndteringen og behandlingen af prøven før farvning. Forkert fiksering, nedfrysning, optøning, vask, tørring, opvarmning, snit eller kontaminering med andre prøver eller væsker kan give artefakter eller falske resultater. Inkonsekvente resultater kan skyldes variationer i fikserings- og indstøbningsmetoder samt uregelmæssigheder i selve prøven.
- Ydeevnen blev valideret med de procedurer, som er beskrevet i brugsanvisningen til den respektive ZytoVision-probe og -implementeringskit. Ændringer i disse procedurer kan ændre ydeevnen og skal valideres af brugeren. Dette *in vitro*-diagnostiske udstyr er kun certificeret som CE, når det anvendes som beskrevet i denne brugsanvisning og inden for anvendelsesformålet.

8. Interfererende stoffer

Følgende fikseringsmidler er uforligelige med ISH:

- Bouin-fikseringsmiddel
- B5-fikseringsmiddel
- Sure fikseringsmidler (f.eks. pikrinsyre)
- Zenker-fikseringsmiddel
- Alkoholer (anvendt alene)
- Kviksølvchlorid
- Formaldehyd/zink-fikseringsmiddel
- Hollande-fikseringsmiddel
- Ikke-bufferet formalin

9. Præparering af prøver

Anbefalinger:

- Undgå krydskontaminering af prøver i alle trin under præparering, da det kan føre til forkerte resultater.
- Fiksering i 10 % neutralt bufferet formalin i 24 timer ved stuetemperatur (18-25 °C).
- Prøvestørrelse ≤ 0,5 cm³.
- Brug paraffin af bedste kvalitet.
- Indstøbning skal udføres ved temperaturer under 65 °C.
- Præparer mikrotomsnit på 3-5 µm.
- Brug positivt ladede mikroskopobjektglas.
- Fiksér vævssnit i 2-16 timer ved 50-60 °C.

10. Forberedende behandling af produktet

20x Wash Buffer TBS (WB5) skal præpareres i henhold til anvisningerne i 11. "Analyseprocedure". Alle andre kitreagenser er klar til brug. Rekonstitution, blanding eller fortynding er ikke nødvendig. Bring prøben til stuetemperatur, og bland kortvarigt før brug.

11. Analyseprocedure

11.1 Dag 1

Forberedende trin

1. *Præparer en ethanolserie (70 %, 90 % og 100 % ethanolopløsninger)*: Fortynd 100 % ethanol med afioniseret eller destilleret vand. Disse opløsninger kan opbevares i passende beholdere og kan genbruges.
2. *Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2)*: Opvarm til 98 °C i en tildækket farvebeholder.
3. *Præparering af 3 % H₂O₂*: Fortynd 1 del 30 % H₂O₂ i 9 dele 100 % metanol.
4. *ZytoDot 2C CISH-probe*: Bringes til stuetemperatur før brug.

Forbehandling (afvoksning/proteolyse)

1. Inkuber objektglassene i 10 min. ved 70 °C (f.eks. på en varmeplade).
2. Inkuber objektglassene til 2x i 5 min. i xylen.
3. Inkuber objektglassene til 3x i 3 min. i 100 % ethanol.
4. Inkuber objektglassene i 5 min. i 3 % H₂O₂.
5. Vask objektglassene 2x i 1 min. i afioniseret eller destilleret vand.
6. Inkuber i 15 min. i forvarmet Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2) ved 98 °C.

Brug otte objektglas pr. farvebeholder (tilføj dummyobjektglas om nødvendigt).

7. Overfør objektglassene øjeblikkeligt til afioniseret eller destilleret vand, og vask 2x i 2 min.
8. Anvend (drypvis) Pepsin Solution (ES1) til prøven, og inkuber i 5-15 min. ved 37 °C i et fugtighedskammer.

ES1 kan danne præcipitater, hvilket ikke påvirker kvaliteten.

Generelt anbefaler vi, at der fastslås et optimalt tidspunkt til proteolyse i forprøver.

9. Nedsenk objektglassene i afioniseret eller destilleret vand.
10. Dehydrering i: 70 %, 90 % og 100 % ethanol, hver i 1 min.
11. Lufttør snittene.

Bemærk: Sørg for at tørre snittene helt før probeapplikation.

Denaturering og hybridisering

1. Pipetter 10 µl af prøben på hver forbehandlede prøve.
2. Tildæk prøverne med en 22 mm x 22 mm coverslip (undgå luftbobler), og forsegl coverslip.

Vi anbefaler gummiment (f.eks. Fixogum) til forsegling.

3. Anbring objektglassene på en varmeplade eller en hybridizer, og denaturer prøverne i 5 min. ved 79 °C.
4. Overfør objektglassene til et fugtighedskammer, og hybridiser natten over ved 37 °C (f.eks. i en hybridiseringsovn).

Det er ekstremt vigtigt, at prøverne ikke tørrer ud under hybridiseringstrinet.

11.2 Dag 2

Forberedende trin

1. Wash Buffer SSC (WB1): Opvarm til 80 °C i en tildækket farvebeholder i forbindelse med stringent vask. **WB1** kan danne præcipitater ved 2-8 °C, hvilket ikke påvirker kvaliteten og bør opløses ved opvarmning.
2. *Præparering af 1x Wash Buffer TBS*: Fortynd 1 del 20x Wash Buffer TBS (WB5) i 19 dele afioniseret eller destilleret vand.
Fortyndet 1x Wash Buffer TBS er stabil i én uge ved opbevaring ved 2-8 °C.
3. Anti-DIG/DNP-Mix (AB14), HRP/AP-Polymer-Mix (AB13), AP-Red Solution A (SB6a), AP-Red Solution B (SB6b), HRP-Green Solution A (SB7a), HRP-Green Solution B (SB7b), Nuclear Blue Solution (CS2), Mounting Solution (alcoholic) (MT4): Bringes til stuetemperatur før brug.
*Komponenterne **SB7a** og **SB7b** kan danne præcipitater, hvilket ikke påvirker farvekvaliteten.*

Posthybridisering og påvisning

1. Fjern forsigtigt gummimenten eller limen.
2. Fjern coverslip ved at nedsænke objektglassene i Wash Buffer SSC (WB1) ved stuetemperatur i 5 min.

WB1 kan genbruges én gang. Opbevar ved 2-8 °C i maks. én uge.

3. Vask objektglassene i 5 min. i Wash Buffer SSC (WB1) ved 80 °C.

Brug otte objektglas pr. farvebeholder (tilføj dummyobjektglas om nødvendigt).

4. Vask objektglassene 2x i 1 min. i afioniseret eller destilleret vand.
5. Nedsenk objektglassene i 1x Wash Buffer TBS.
6. Anvend Anti-DIG/DNP-Mix (AB14) (1-2 dråber pr. objektglas) på objektglassene, og inkuber i 15 min. ved 37 °C i et fugtighedskammer.
7. Vask objektglassene 3x i 1 min. i 1x Wash Buffer TBS.
8. Anvend HRP/AP-Polymer-Mix (AB13) (1-2 dråber pr. objektglas) på objektglassene, og inkuber i 15 min. ved 37 °C i et fugtighedskammer.
9. Vask objektglassene 3x i 1 min. i 1x Wash Buffer TBS.
10. Præparer AP-Red Solution (brugsopløsning): Fyld 1 ml AP-Red Solution B (**SB6b**) i et måleglas, og tilføj én dråbe (30 µl) af AP-Red Solution A (**SB6a**). Bland godt.
11. Anvend AP-Red Solution (1-2 dråber pr. objektglas) på objektglassene, og inkuber i mørke i 10 min. ved stuetemperatur.

12. Præparerer HRP-Green Solution (brugsopløsning) under inkubationen: Fyld 1 ml **HRP-Green Solution B (SB7b)** i et måleglas, og tilføj to dråber (2x 20 µl) **HRP-Green Solution A (SB7a)**. Bland godt.
13. Vask objektglassene i 2 min. i afioniseret eller destilleret vand.
14. Anvend HRP-Green Solution drypvist (1-2 dråber pr. objektglas) på objektglassene, og inkuber i mørke i 10 min. ved stuetemperatur.
15. Vask objektglassene i 2 min. i afioniseret eller destilleret vand.
16. Brug **Nuclear Blue Solution (CS2)** til at kontrastfarve prøverne i 2 min.
17. Overfør objektglassene til en farvebeholder, og vask i 2 min. under rindende koldt vand fra hanen.
18. Dehydrer 3x i 30 sek. i 100 % ethanol (brug meget rent ethanol).
19. Inkuber objektglassene til 2x i 30 sek. i xylén (brug meget ren xylén).

Undlad at forlænge eller afkorte inkubationstiden, da dette kan resultere i signaltab!

20. Undgå luftbobler, og tildæk prøverne med en coverslip (22 mm x 22 mm; 24 mm x 32 mm) ved hjælp af **Mounting Solution (alcoholic) (MT4)**. Lad der gå 20-30 min., så coverslip kan blive immobiliseret.

Pipetteringsprocessen kan lettes ved at bruge en pipettespids, som er klippet af for at gøre åbningen større.

21. Evaluer farveprøverne ved hjælp af lysmikroskopi.

12. Fortolkning af resultater

Ved hjælp af **ZytoDot 2C CISH Implementation Kit** vises hybridiserings signaler fra digoxigeninmærkede polynukleotider som mørkegrønne adskilte punkter, og dinitrophenylmærkede polynukleotider vises som klare røde adskilte punkter. I interfaser eller metafaser af normale celler eller celler uden defekter i de undersøgte kromosomer vises to signaler pr. probe/haptenmærkning, med undtagelse af prober, som er rettet mod X- eller Y-kromosomer, hvilket resulterer i to eller ingen signaler pr. probe/haptenmærkning, afhængigt af køn. I celler med kromosomdefekter kan et andet signalmønster være synligt i interfaser eller metafaser. Du kan finde flere oplysninger om fortolkning af resultaterne i brugsanvisningen til den respektive **ZytoDot 2C CISH-probe**.

13. anbefalede kvalitetskontrolprocedurer

Se brugsanvisningen til den relevante **ZytoVision-probe**.

14. Ydeevnekaraktistika

Se brugsanvisningen til den relevante **ZytoVision-probe**.

15. Bortskaffelse

Reagenserne skal bortskaffes i henhold til lokale regler.

16. Fejlfinding

Enhver afvigelse fra brugsanvisningen kan føre til dårligere farvningsresultater eller slet ingen farvning. Se www.zytovision.com for yderligere oplysninger.

Svage eller slet ingen signaler

Mulig årsag	Handling
Proteolytisk forbehandling ikke udført korrekt	Optimer pepsininkubationstid, øg eller reducer om nødvendigt
Probefordampning	Når der anvendes en hybridizer, er brug af våde streger/vandfyldte tanke obligatorisk. Når der anvendes en hybridiseringssovn, kræves der brug af fugtighedskammer. Desuden skal coverslip forsejles fuldstændigt, f.eks. med Fixogum, for at forhindre udtørring af prøven under hybridisering
Kontrastfarvningstid for lang	Undgå mørk kontrastfarvning, da det kan skjule positive farvnings signaler
Bluing af kontrastfarvning ikke udført korrekt	Brug koldt vand fra hanen til bluing; brug ikke lunken eller varmt vand eller bluing-reagenser

Signaler for stærke

Mulig årsag	Handling
Proteolytisk forbehandling udført for længe	Optimer pepsininkubationstid, øg eller reducer om nødvendigt
AP-Red Solution-inkubationstid ikke korrekt	Inkubationstiden kan om nødvendigt kortes ned til 5 min. Undgå at varme substratopløsningen op til mere end 25 °C; inkuber kun ved stuetemperatur
HRP-Green Solution-inkubationstid ikke korrekt	Inkubationstiden kan om nødvendigt kortes ned til 7 min. Undgå at varme substratopløsningen op til mere end 25 °C; inkuber kun ved stuetemperatur

Røde signaler for svage

Mulig årsag	Handling
AP-Red Solution har været udsat for stærkt direkte lys	Præparer og brug AP-Red Solution beskyttet mod stærkt direkte lys
AP-Red Solution er præpareret for tidligt	Præparer umiddelbart før brug
AP-Red Solution-inkubationstid ikke korrekt	Inkubationstiden kan om nødvendigt forlænges op til 15 min.
Utilstrækkelig præparering af kromogent substrat	Solution A's volumen må ikke øges

Grønne signaler for svage

Mulig årsag	Handling
Inkubationstiden for vasketrin efter farvning med HRP-Green for lang	De givne inkubationstider må ikke overskrides
HRP-Green Solution-inkubationstid ikke korrekt	Inkubationstiden kan om nødvendigt forlænges op til 15 min.
Utilstrækkelig præparering af kromogent substrat	Solution A's volumen må ikke øges

Signaler bliver svagere eller smelter sammen

Mulig årsag	Handling
Der er anvendt en uegnet monteringsopløsning	Anvend kun den monteringsopløsning, der følger med kittet, eller xylénbaserede monteringsopløsninger uden urenheder; brug ikke coverslip-tape
Snit er ikke dehydreret korrekt	Brug friske ethanol- og xylénopløsninger; brug kun xylén af "ren" kvalitet

Ujævn eller visse steder meget let farvning

Mulig årsag	Handling
Ufuldstændig afvoksning	Brug friske opløsninger; kontrollér afvoksningstider
Reagensvolumen for lille	Sørg for, at reagensvolumen er stort nok til at dække vævsområdet

Uensartede resultater

Mulig årsag	Handling
Utilstrækkelig tørring før probeapplikation	Forlæng lufttørring

For meget vand/vaskebuffer på væv før applicering af pepsin, antistoffer og/eller farvesubstrater	Sørg for, at overskydende væske fjernes fra vævssnittet ved at duppe eller ryste den af objektglasset. Små mængder overskydende vand/vaskebuffer interfererer ikke med testen
Variationer i vævsfikserings- og indstøbningsmetoder	Optimer fikserings- og indstøbningsmetoder
Variationer i vævssnits tykkelse	Optimer snittene

Morfologi nedbrudt

Mulig årsag	Handling
Celle- eller vævsprøve er ikke korrekt fikseret	Optimer fikseringstid og fikseringsmiddel
Proteolytisk forbehandling ikke udført for længe	Reducer pepsininkubationstid

Krydshybridiseringssignaler; støjende baggrund

Mulig årsag	Handling
Snit tørret ud på et tidspunkt under eller efter hybridisering	Undgå, at snittene tørrer ud; brug fugtighedskammer; forsegl coverslip korrekt
Lang substratinkubationstid	Forkort substratinkubationstid
Ufuldstændig afvoksning	Brug friske opløsninger; kontrollér varighed af afvoksning
Proteolytisk forbehandling for stærk	Optimer pepsininkubationstid
Objektglas nedkølet til stuetemperatur før hybridisering	Overfør objektglassene hurtigt til hybridiseringstemperatur

Overlappende signaler

Mulig årsag	Handling
Upassende tykkelse af vævssnit	Præparerer mikrotomsnit på 3-5 μm

Prøver glider af objektglasset

Mulig årsag	Handling
Proteolytisk forbehandling for stærk	Forkert pepsininkubationstid

17. Litteratur

- Isola J, Tanner M (2004) *Methods Mol Med* 97: 133-44.
- Kounelis S, et al. (2005) *Anticancer Res* 25: 939-46.
- Speel EJ, et al. (1994) *J Histochem Cytochem* 42: 1299-307.
- Tsukamoto T, et al. (1991) *Int J Dev Biol* 35: 25-32.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

18. Revision

www.zytovision.com

Se www.zytovision.com for de nyeste brugsanvisninger samt brugsanvisninger på forskellige sprog.

Vores eksperter kan besvare dine spørgsmål.
Kontakt help@zytovision.com



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

Varemærker:

ZytoVision® og ZytoDot® er varemærker tilhørende ZytoVision GmbH.