



## ZytoLight

### SPEC CDKN2A/CEN 9 Dual Color Probe

**REF** Z-2063-50  $\nabla_{\Sigma}$  5 (0,05 ml)

**REF** Z-2063-200  $\nabla_{\Sigma}$  20 (0,2 ml)

Für den qualitativen Nachweis von Deletionen des humanen CDKN2A-Gens und klassischer Satelliten-DNA III des humanen Chromosoms 9 mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH)



In-vitro-Diagnostikum  
gemäß EU Richtlinie 98/79/EC

## 1. Verwendungszweck

Die ZytoLight SPEC CDKN2A/CEN 9 Dual Color Probe (PL22) ist für den qualitativen Nachweis von Deletionen des humanen CDKN2A-Gens sowie den Nachweis von klassischer Satelliten-DNA III des humanen Chromosoms 9 in zytologischen Präparaten oder Formalin-fixierten, Paraffin-eingebetteten Geweben mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) bestimmt. Die Sonde ist für die Verwendung in Kombination mit den ZytoLight FISH Implementation Kits (Prod. Nr. Z-2028-5/-20, oder Z-2099-20) vorgesehen.

Die Interpretation der Ergebnisse muss im Kontext mit der klinischen Anamnese unter Berücksichtigung weiterer klinischer und pathologischer Daten des Patienten durch einen qualifizierten Pathologen erfolgen.

## 2. Klinische Relevanz

Das CDKN2A (cyclin dependent kinase inhibitor 2A) Gen, welches oft auch als p16 oder INK4a/ARF bezeichnet wird, ist in der chromosomalen Region 9p21.3 lokalisiert. Unter Verwendung von alternativen ersten Exons und eines alternativen Leserasters codiert das Gen für die zwei verschiedenen Tumorsuppressorproteine p16INK4a und p14ARF, welche beide an der Zellzyklusregulation beteiligt sind. CDKN2A wurde als hauptsächliches Suszeptibilitäts-gen für Melanome identifiziert. Durch Deletionen wird das Tumorsuppressorgen CDKN2A bei einer Vielzahl von humanen Primärtumoren inaktiviert, wie (beispielsweise) beim Blasen- und Nierenzellkarzinom, Sarkom, Gliom, Mesotheliom sowie beim Melanom. Außerdem kann eine Deletion des CDKN2A-Gens bei bis zu 80% der Fälle einer T-Zell akuten lymphoblastischen Leukämie nachgewiesen werden und wird mit einer schlechten Prognose sowie einem Wiederauftreten der Erkrankung assoziiert.

## 3. Prinzip der Methode

Die Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) erlaubt den Nachweis und die Visualisierung von spezifischen Nukleinsäuresequenzen in Zellpräparationen. Fluoreszenzmarkierte DNA-Fragmente, sogenannte FISH-Sonden, und deren komplementäre Zielsequenzen in den Präparationen werden co-denaturiert und können anschließend während der Hybridisierung binden. Danach werden unspezifische und

ungebundene Sondenfragmente durch Stringenzwascchritte entfernt. Nach der Gegenfärbung der DNA mit DAPI werden hybridisierte Sondenfragmente mit einem Fluoreszenzmikroskop visualisiert, welches mit für die Fluorochrome spezifischen Anregungs- und Emissionsfiltern ausgestattet ist, mit denen die FISH-Sondenfragmente direkt markiert wurden.

## 4. Enthaltene Komponenten

Die ZytoLight SPEC CDKN2A/CEN 9 Dual Color Probe besteht aus:

- ZyGreen (Anregung 503 nm/Emission 528 nm) markierten Polynukleotiden (~10,0 ng/ $\mu$ l), die gegen Sequenzen in 9p21.3\* (chr9:21,742,629-22,056,853) gerichtet sind, welche die CDKN2A-Genregion enthalten (siehe Abb.1).
- ZyOrange (Anregung 547 nm/Emission 572 nm) markierten Polynukleotiden (~1,5 ng/ $\mu$ l), die gegen Sequenzen in 9q12 gerichtet sind, die spezifisch für die zentromerische Region D9Z3 der klassischen Satelliten-DNA III von Chromosom 9 sind.

- Hybridisierungsbuffer auf Basis von Formamid

\*nach Human Genome Assembly GRCh37/hg19

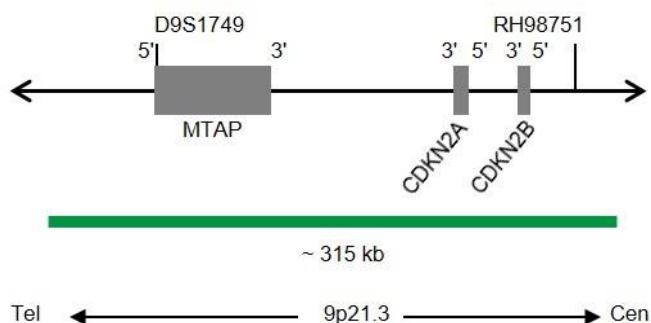


Abb. 1: SPEC CDKN2A Sondenlokalisation (nicht maßstabsgetreu)

Die ZytoLight SPEC CDKN2A/CEN 9 Dual Color Probe ist verfügbar in zwei Größen:

- Z-2063-50: 0,05 ml (5 Reaktionen von je 10  $\mu$ l)
- Z-2063-200: 0,2 ml (20 Reaktionen von je 10  $\mu$ l)

## 5. Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien

- Positive und negative Kontrollproben
- Hybridizer oder Wärmeplatte
- Hybridizer oder Feuchtekkammer im Hybridisierungssofen
- Stoppuhr
- Küvetten oder Färbetröge
- Kalibriertes Thermometer
- Verstellbare Pipetten (10  $\mu$ l, 25  $\mu$ l)
- Ethanol oder denaturierter Alkohol
- Deionisiertes oder destilliertes Wasser
- Deckgläser (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Naturkautschuk-Klebstoff, z.B., Fixogum Rubber Cement (Prod. Nr. E-4005-50/-125) oder Ähnliches
- Regelmäßig gewartetes Fluoreszenzmikroskop (400-1000x)
- Immersionsöl, geeignet für Fluoreszenzmikroskopie
- Entsprechende Filtersätze

### Zytologische Präparate

- ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit (Prod. Nr. Z-2099-20)
- Objektträger, unbeschichtet
- Wasserbad (70°C)
- 37% Formaldehyd, säure-frei, oder 10% Formalin, neutral gepuffert
- 2x Natriumcitrat Salzlösung (SSC), z.B. aus 20x SSC Solution (Prod. Nr. WB-0003-50)

### FFPE Präparate

- ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit (Prod. Nr. Z-2028-5/-20)
- Objektträger, positiv geladen
- Wasserbad (37°C, 98°C)
- Xylol

## 6. Lagerung und Handhabung

Bei 2-8°C in aufrechter Position und lichtgeschützt lagern. Vor Licht geschützt verwenden. Unmittelbar nach Gebrauch wieder unter Lagerbedingungen aufbewahren. Keine Reagenzien nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatums verwenden. Das Produkt ist bei sachgemäßer Handhabung bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

## 7. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Gebrauchsanweisung vor der Verwendung lesen!
- Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden!
- Dieses Produkt enthält Substanzen (in geringen Konzentrationen und Volumina), welche gesundheitsschädlich und potentiell infektiös sind. Jeder direkte Kontakt mit den Reagenzien muss vermieden werden. Entsprechende Schutzmaßnahmen (Verwendung von Einmalhandschuhen, Schutzbrille und Laborbekleidung) sind zu ergreifen!
- Sollten Reagenzien mit der Haut in Kontakt kommen, die betroffenen Stellen sofort mit viel Wasser abspülen!
- Ein Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage für den beruflichen Anwender verfügbar.
- Die Reagenzien nicht wiederverwenden.
- Kreuzkontaminationen der Präparate vermeiden, da diese zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Die Sonde sollte nicht für längere Zeit dem Licht, insbesondere intensivem Licht, ausgesetzt werden. Das bedeutet, falls möglich sollten alle Arbeitsschritte im Dunkeln und/oder unter Verwendung von lichtundurchlässigen Behältnissen durchgeführt werden!

### Gefahren- und Sicherheitshinweise:

Die gefahrbestimmende Komponente ist Formamid.



#### Gefahr

H351	Kann vermutlich Krebs erzeugen.
H360FD	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
H373	Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition.
P201	Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P202	Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
P260	Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P308+P313	BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P405	Unter Verschluss aufbewahren.

## 8. Einschränkungen

- Für die Verwendung als In-vitro-Diagnostikum.
- Nur für die professionelle Anwendung.
- Die klinische Interpretation jeglicher positiven Färbung bzw. deren Abwesenheit muss im Kontext mit der klinischen Anamnese, Morphologie, anderer histopathologischer Kriterien sowie weiterer diagnostischer Tests erfolgen. Es obliegt der Verantwortung eines qualifizierten Pathologen, mit FISH Sonden, Reagenzien, Diagnose-Panels und den zur Erstellung von gefärbten Präparaten verwendeten Methoden vertraut zu sein. Die Färbung ist in einem zertifizierten, lizenzierten Labor unter Aufsicht eines Pathologen durchzuführen, der für die Auswertung der Färbepreparate und für die Sicherstellung der Eignung von positiven und negativen Kontrollen verantwortlich ist.
- Die Färbung der Präparate, insbesondere die Signalintensität und die Hintergrundfärbung, ist abhängig von der Behandlung und Prozessierung der Präparate vor der Färbung. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder Kontamination mit anderen Präparaten oder Flüssigkeiten können

Artefakte oder falsche Ergebnisse verursachen. Inkonsistente Ergebnisse können von Variationen bei Fixierungs- und Einbettungsverfahren sowie von inhärenten Unregelmäßigkeiten innerhalb des Präparates resultieren.

- Die Sonde ist nur für den Nachweis der Loci, die in 4. „Enthaltene Komponenten“ beschrieben werden, zu verwenden.
- Die Leistung wurde unter Verwendung der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren validiert. Abweichungen von diesen Verfahren können die Leistung beeinflussen und müssen vom Anwender validiert werden.

## 9. Störsubstanzen

Rote Blutzellen innerhalb des Präparates können Autofluoreszenz verursachen, welche die Signalerkennung behindert.

Folgende Fixierungen sind nicht kompatibel mit FISH:

- Bouin Fixierung
- B5 Fixierung
- Saure Fixiermittel (z.B. Pikrinsäure)
- Zenker Fixierung
- Alkohole (bei alleiniger Verwendung)
- Quecksilberchlorid
- Formaldehyd/Zink Fixiermittel
- Hollande Fixierung
- Ungepuffertes Formalin

## 10. Vorbereitung der Proben

### Zytologische Präparate

- Die Präparatevorbehandlung ist wie in der Gebrauchsanweisung des ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kits beschrieben durchzuführen.

### FFPE Präparate

- Fixierung in 10% neutral gepuffertem Formalin für 24h bei Raumtemperatur (18-25°C).
- Probengröße < 0,5 cm<sup>3</sup>.
- Qualitativ hochwertiges Paraffin verwenden.
- Das Einbetten sollte bei Temperaturen unter 65°C erfolgen.
- 2-4 µm dicke Mikrotomschnitte anfertigen.
- Positiv geladene Objektträger verwenden.
- Für 2-16h bei 50-60°C fixieren.

## 11. Vorbereitung der Reagenzien

Das Produkt ist gebrauchsfertig. Kein Rekonstituieren, Mischen oder Verdünnen ist notwendig. Die Sonde vor der Anwendung lichtgeschützt auf Raumtemperatur (18-25°C) bringen. Vor dem Öffnen durch Vortexen mischen und kurz herunterzentrifugieren.

## 12. Durchführung

### Zytologische Präparate

#### Vorbehandlung der Präparate

Die Präparatevorbehandlung ist wie in der Gebrauchsanweisung des ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kits beschrieben durchzuführen.

#### Denaturierung und Hybridisierung

1. 10 µl der Sonde auf jedes der vorbehandelten Präparate pipettieren.
2. Die Präparate mit 22 mm x 22 mm Deckgläsern abdecken (Einschluss von Luftbläschen vermeiden) und das Deckglas versiegeln.  
*Wir empfehlen die Verwendung von Naturkautschuk-Klebstoff (z.B. Fixogum) zum Versiegeln.*
3. Die Objektträger auf einer Wärmeplatte oder in einem Hybridizer platzieren und die Präparate für 5 min bei 72°C denaturieren.
4. Die Objektträger in eine Feuchteammer überführen und über Nacht bei 37°C hybridisieren (z.B. in einem Hybridisierungsöfen).

*Es ist essentiell, dass die Präparate während des Hybridisierungsschritts nicht austrocknen.*

### Post-Hybridisierung

Die Post-Hybridisierung (Waschen, Gegenfärbung, Fluoreszenzmikroskopie) gemäß der Gebrauchsanweisung des ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kits durchführen.

### FFPE Präparate

#### Vorbereitung der Präparate

Die Präparatvorbereitung ist wie in der Gebrauchsanweisung des ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kits beschrieben durchzuführen.

#### Denaturierung und Hybridisierung

1. 10 µl der Sonde auf jedes der vorbereiteten Präparate pipettieren.
  2. Die Präparate mit 22 mm x 22 mm Deckgläsern abdecken (Einschluss von Luftbläschen vermeiden) und das Deckglas versiegeln.
- Wir empfehlen die Verwendung von Naturkautschuk-Klebstoff (z.B. Fixogum) zum Versiegeln.*
3. Die Objektträger auf einer Wärmeplatte oder in einem Hybridizer platzieren und die Proben für 10 min bei 75°C denaturieren.
  4. Die Objektträger in eine Feuchtkammer überführen und über Nacht bei 37°C hybridisieren (z.B. in einem Hybridisierungsöfen).

*Es ist essentiell, dass die Präparate während des Hybridisierungsschritts nicht austrocknen.*

### Post-Hybridisierung

Die Post-Hybridisierung (Waschen, Gegenfärbung, Fluoreszenzmikroskopie) gemäß der Gebrauchsanweisung des ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kits durchführen.

### 13. Interpretation der Ergebnisse

Bei Verwendung von geeigneten Filtersätzen erscheinen die Hybridisierungssignale der Sonde grün (CDKN2A-Genregion) und orange (CEN 9).

**Normale Situation:** In Interphasen von normalen Zellen oder Zellen ohne eine Deletion der CDKN2A-Genregion erscheinen zwei orange und zwei grüne Signale (siehe Abb. 2).

**Aberrante Situation:** In einer Zelle mit Deletion, die die CDKN2A-Genregion betrifft, kann eine reduzierte Anzahl grüner Signale beobachtet werden. Deletionen, welche nur Teile der CDKN2A-Genregion betreffen, können zu einem normalen Signalmuster mit grünen Signalen reduzierter Größe führen (siehe Abb. 2).

*Sich überlagernde Signale können als gelbe Signale erscheinen.*

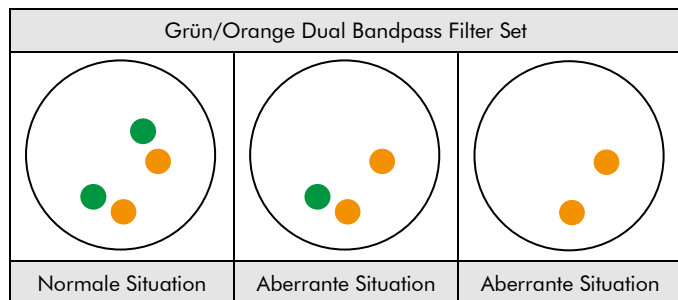


Abb. 2: Zu erwartende Ergebnisse in normalen und aberranten Zellkernen

Bei einigen aberranten Präparaten kann eine abweichende Signalverteilung beobachtet werden, welche zu einem anderen Signalmuster als zuvor beschrieben führen kann. Dies kann auf abweichende Rearrangierungen hinweisen. Unerwartete Signalmuster sollten näher untersucht werden.

#### Bitte beachten:

- Aufgrund von dekondensiertem Chromatin können einzelne FISH-Signale als kleine Signal-Cluster erscheinen. Daher sollten zwei oder drei Signale der gleichen Größe mit einer Distanz von  $\leq 1$  Signaldurchmesser als ein Signal gewertet werden.
- Sich überlagernde Zellkerne nicht auswerten.
- Über-verdaute Zellkerne nicht auswerten (erkennbar als dunkle Areale im Zellkern).
- Keine Auswertung von Zellen mit starker Eigenfluoreszenz, welche die Signalerkennung behindert.

- Ein negatives oder unspezifisches Ergebnis kann durch verschiedene Faktoren verursacht werden (siehe Kapitel 17).
- Um die Ergebnisse korrekt zu interpretieren, muss der Anwender das Produkt vor der Anwendung in diagnostischen Verfahren unter Berücksichtigung nationaler und/oder internationaler Richtlinien validieren.

### 14. Empfohlene Qualitätskontrollverfahren

Um die korrekte Leistung der verwendeten Präparate und Testreagenzien zu überwachen, sollte jeder Test von internen und externen Kontrollen begleitet werden. Falls interne und/oder externe Kontrollen keine adäquate Färbung zeigen, müssen die Ergebnisse der Patientenproben als ungünstig angesehen werden.

**Interne Kontrolle:** Nicht-neoplastische Zellen innerhalb des Präparates, die ein normales Signalmuster aufweisen, z.B. Fibroblasten.

**Externe Kontrolle:** Validierte positive und negative Kontrollproben.

### 15. Leistungsmerkmale

#### Zytologische Präparate

Die Leistung wurde gemäß der Gebrauchsanweisung des ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kits evaluiert.

**Genauigkeit:** Die Lokalisation der Hybridisierung der Sonde wurde auf Metaphasen eines karyotypisch unauffälligen Mannes evaluiert. Die Sonde hybridisierte in allen getesteten Präparaten nur an die erwarteten Loci. Es wurden keine zusätzlichen Signale oder Kreuzhybridisierungen beobachtet. Daher wurde eine Genauigkeit von 100% berechnet.

**Analytische Sensitivität:** Für die Bewertung der analytischen Sensitivität wurde die Sonde auf Metaphasen von karyotypisch unauffälligen Männern evaluiert. Sämtliche Zellkerne zeigten das erwartete unauffällige Signalmuster in allen getesteten Präparaten. Daher wurde eine analytische Sensitivität von 100% berechnet.

**Analytische Spezifität:** Für die Bewertung der analytischen Spezifität wurde die Sonde auf Metaphasen von karyotypisch unauffälligen Männern evaluiert. In sämtlichen getesteten Präparaten hybridisierten alle Signale nur an die erwarteten Zielbereiche und an keine weiteren Loci. Daher wurde eine analytische Spezifität von 100% berechnet.

#### FFPE Präparate

Die Leistung wurde gemäß der Gebrauchsanweisung des ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kits evaluiert.

**Genauigkeit:** Die Lokalisation der Hybridisierung der Sonde wurde auf Metaphasen eines karyotypisch unauffälligen Mannes evaluiert. Die Sonde hybridisierte in allen getesteten Präparaten nur an die erwarteten Loci. Es wurden keine zusätzlichen Signale oder Kreuzhybridisierungen beobachtet. Daher wurde eine Genauigkeit von 100% berechnet.

**Analytische Sensitivität:** Für die Bewertung der analytischen Sensitivität wurde die Sonde auf Metaphasen von karyotypisch unauffälligen Männern evaluiert. Sämtliche Zellkerne zeigten das erwartete unauffällige Signalmuster in allen getesteten Präparaten. Daher wurde eine analytische Sensitivität von 100% berechnet.

**Analytische Spezifität:** Für die Bewertung der analytischen Spezifität wurde die Sonde auf Metaphasen von karyotypisch unauffälligen Männern evaluiert. In sämtlichen getesteten Präparaten hybridisierten alle Signale nur an die erwarteten Zielbereiche und an keine weiteren Loci. Daher wurde eine analytische Spezifität von 100% berechnet.

### 16. Entsorgung

Die Entsorgung der Reagenzien muss in Übereinstimmung mit den örtlichen Vorschriften erfolgen.

### 17. Fehlerbehebung

Jede Abweichung von der Gebrauchsanweisung kann zu schwachen bis gar keinen Färbungen führen. Einige der Hinweise in diesem Abschnitt sind nur bei der Verwendung des ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kits anwendbar.

**Schwache oder keine Signale**

Mögliche Ursache	Lösung
Es sind keine Zielsequenzen vorhanden	Geeignete Kontrollen verwenden
Zell- oder Gewebeproben sind nicht korrekt fixiert	Die Fixierzeit und das Fixiermittel optimieren oder Post-Fixierungsschritte wie in „Arbeitsanleitung“ der „Gebrauchsanweisung des <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kits</u> beschrieben anwenden
Temperatur der Hitze-Vorbehandlung, Proteolyse, Denaturierung, Hybridisierung oder der Stringenzwaschung nicht korrekt	Die Temperatur aller technischen Geräte mit einem kalibrierten Thermometer überprüfen
Proteolytische Vorbehandlung nicht optimal	Die Inkubationszeit mit Pepsin optimieren, falls notwendig erhöhen oder reduzieren
Verdunstung der Sonde	Bei der Nutzung eines Hybridizers ist die Verwendung von feuchten Vliesstreifen/Wassertanks erforderlich. Bei der Nutzung eines Hybridisierofens muss eine Feuchtekammer verwendet werden. Zusätzlich sollte das Deckglas, z.B. mit Fixogum, vollständig versiegelt werden, um ein Austrocknen der Präparat während der Hybridisierung zu verhindern.
Zu gering konzentrierter Stringenzwaschpuffer	Die Konzentration des Stringenzwaschpuffers überprüfen
Alte Dehydrierungslösungen	Frische Dehydrierungslösungen ansetzen
Fluoreszenzmikroskop falsch eingestellt	Einstellungen überprüfen
Ungeeignete Filtersätze verwendet	Für die Fluorochrome der Sonde geeignete Filtersätze verwenden. <i>Triple-Bandpass-Filtersätze liefern im Vergleich zu Single- oder Dual-Bandpass-Filtersätzen weniger Licht. Daher können die Signale unter Verwendung von Triple-Bandpass-Filtersätzen schwächer erscheinen.</i>
Schädigungen der Sonden/Fluorophore durch Licht	Hybridisierung und Waschschrte im Dunkeln durchführen

**Kreuzhybridisierungssignale, Hintergrundrauschen**

Mögliche Ursache	Lösung
Unvollständiges Entparaffinieren	Frische Lösungen verwenden, Dauer des Entparaffinierens überprüfen
Proteolytische Vorbehandlung zu stark	Die Inkubationszeit mit Pepsin reduzieren
Sondenvolumen pro Fläche zu hoch	Das Volumen der Sonde pro Präparat/Fläche reduzieren, Sonde tropfenweise verteilen, um lokale Konzentration zu vermeiden
Objektträger sind vor der Hybridisierung auf Raumtemperatur abgekühlt	Objektträger schnell auf 37°C transferieren
Zu hoch konzentrierter Stringenzwaschpuffer	Die Konzentration des Stringenzwaschpuffers überprüfen
Temperatur der Waschschrte nach Hybridisierung ist zu gering	Temperatur überprüfen und, wenn nötig, erhöhen

Austrocknung der Präparate zwischen den einzelnen Inkubationsschritten	Austrocknung durch Versiegeln der Objektträger und durch das Durchführen der Inkubation in feuchter Umgebung verhindern
--	---

**Degradierete Morphologie**

Mögliche Ursache	Lösung
Zell- oder Gewebeproben sind nicht optimal fixiert	Die Fixierzeit und das Fixiermittel optimieren oder Post-Fixierungsschritte wie in „Durchführung“ der „Gebrauchsanweisung des <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kits</u> beschrieben anwenden
Proteolytische Vorbehandlung nicht optimal ausgeführt	Die Inkubationszeit mit Pepsin optimieren, falls notwendig erhöhen oder reduzieren
Unzureichende Trocknung vor Applikation der Sonde	Lufttrocknung verlängern

**Überlagernde Zellkerne**

Mögliche Ursache	Lösung
Ungeeignete Dicke der Gewebeschnitte	2-4 µm dicke Mikrotomschnitte anfertigen

**Präparat löst sich vom Objektträger**

Mögliche Ursache	Lösung
Ungeeignete Beschichtung der Objektträger	Geeignete Objektträger verwenden
Proteolytische Vorbehandlung ist zu stark	Inkubationszeit mit Pepsin reduzieren

**Schwache Gegenfärbung**

Mögliche Ursache	Lösung
Gering konzentrierte DAPI-Lösung	<u>DAPI/DuraTect-Solution (ultra)</u> (Prod. Nr. MT-0008-0.8) stattdessen verwenden
Inkubationszeit mit DAPI zu kurz	Inkubationszeit mit DAPI anpassen

## 18. Literatur

- Cowan JM et al. (1988) *J Natl Cancer Inst* 80: 1159-64.
- Holley T, et al. (2012) *PLoS One* 7: e50586.
- Hussussian CJ, et al. (1994) *Nature Genet* 8: 15-21.
- Kamb A, et al. (1994) *Science* 264: 436-40.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Nobori T, et al. (1994) *Nature* 368: 753-6.
- Quelle DE, et al. (1995) *Cell* 83: 993-1000.
- Rocco JW, Sidransky D (2001) *Exp Cell Res* 264: 42-55.
- Schoppmeyer K, et al. (1999) *Neoplasia* 1: 128-37.
- Schwarz S, et al. (2008) *Cytometry A* 73: 305-11.
- Sharpless NE (2005) *Mutat Res* 576: 22-38.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, *Oxford University Press* (1992) ISBN 0 19 963327 4.

Unsere Experten stehen Ihnen für Ihre Fragen zur Verfügung.  
Bitte kontaktieren Sie [helptech@zytovision.com](mailto:helptech@zytovision.com)



ZytoVision GmbH  
Fischkai 1  
27572 Bremerhaven/Deutschland  
Telefon: +49 471 4832-300  
Fax: +49 471 4832-509  
[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)  
Email: [info@zytovision.com](mailto:info@zytovision.com)

### Warenzeichen:

ZytoVision® und ZytoLight® sind Warenzeichen der ZytoVision GmbH.