



ZytoLight

SPEC NTRK3 Dual Color Break Apart Probe

REF Z-2206-50 Σ 5 (0,05 ml)

REF Z-2206-200 Σ 20 (0,2 ml)

Für den qualitativen Nachweis von Translokationen des humanen NTRK3-Gens bei 15q25.3 mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH)



IVD

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

1. Verwendungszweck

Die ZytoLight SPEC NTRK3 Dual Color Break Apart Probe (PL164) ist für den qualitativen Nachweis von Translokationen des humanen NTRK3-Gens bei 15q25.3 in zytologischen Präparaten oder Formalin-fixierten, Paraffin-eingebetteten Geweben wie beispielsweise Leukämiezellen 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

NTRK3 (neurotrophic receptor tyrosine kinase 3, a.k.a. TRKC) ist eine Rezeptor-Tyrosinkinase (TK) für NT3 (neurotrophin 3) und spielt eine zentrale Rolle bei der Entwicklung des zentralen und peripheren Nervensystems sowie beim Zellüberleben. Translokationen des NTRK3-Gens wurden in verschiedenen Karzinomen nachgewiesen, dazu zählen Glioblastome, Philadelphia-Chromosom-ähnliche ALL, kongenitale Fibrosarkome, zelluläre mesoblastische Nephrome, akute myeloische Leukämie, strahlenassoziiertes Schilddrüsenkarzinom, sekretorisches Mammakarzinom sowie das Mamma-analoge sekretorische Karzinom der Speicheldrüse. Die häufigste Rearrangierung des NTRK3-Gens ist t(12;15)(p13.2;q25), welche zu einer Fusion vom 5' Ende des ETV6-Gens mit dem 3' Ende des NTRK3-Gens führt. Dieses Fusionsgen codiert ein Hybridprotein, welches sowohl die TK-Domäne von NTRK3 als auch die Dimerisierungsdomäne von ETV6 enthält, was in einer ligandenunabhängigen TK-Aktivität resultiert. Die Behandlung von Patienten mit NTRK1-, 2-, oder 3-Fusionspositiven Tumoren mit NTRK-Inhibitoren, wie die FDA-zugelassenen Medikamente Larotrecinib oder Entrectinib, wird unabhängig vom NTRK-Gen, Fusionspartner und Tumor mit hohen Ansprechraten assoziiert. Daher kann der Nachweis von NTRK2-Translokationen mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung für Diagnose und Therapie von Bedeutung sein.

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 Stringenzwaschschritte 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 NTRK3 Dual Color Break Apart Probe besteht aus:

- ZyGreen (Anregung 503 nm/Emission 528 nm) markierten Polynukleotiden (~10,0 ng/μl), die gegen Sequenzen in 15q25.3-q26.1* (chr15:88,825,346-89,475,889) gerichtet sind, welche distal zur NTRK3-Bruchpunktregion lokalisiert sind (siehe Abb.1).
- ZyOrange (Anregung 547 nm/Emission 572 nm) markierten Polynukleotiden (~4,5 ng/μl), die gegen Sequenzen in 15q25.3* (chr15:87,976,717-88,471,002) gerichtet sind, welche proximal zur NTRK3-Bruchpunktregion lokalisiert sind (siehe Abb. 1).
- Hybridisierungsbuffer auf Basis von Formamid

*nach Human Genome Assembly GRCh37/hg19

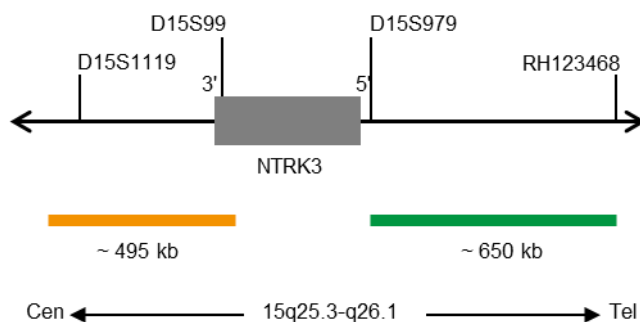


Abb. 1: SPEC NTRK3 Sondenlokalisierung (nicht maßstabsgetreu)

Die ZytoLight SPEC NTRK3 Dual Color Break Apart Probe ist verfügbar in verfügbar in zwei Größen:

- Z-2206-50: 0,05 ml (5 Reaktionen von je 10 μl)
- Z-2206-200: 0,2 ml (20 Reaktionen von je 10 μl)

5. Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien

- Positive und negative Kontrollproben
- Hybridizer oder Wärmeplatte
- Hybridizer oder Feuchtekkammer im Hybridisierungssofen
- Stoppuhr
- Küvetten oder Färbetöpfe
- Kalibriertes Thermometer
- Verstellbare Pipetten (10 μl, 25 μl)
- 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 cm³.
- 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.

- Die Objektträger in eine Feuchtekammer überführen und über Nacht bei 37°C hybridisieren (z.B. in einem Hybridisierungssofen).

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

Vorbehandlung der Präparate

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

Denaturierung und Hybridisierung

- 10 µl der Sonde auf jedes der vorbehandelten Präparate pipettieren.
- 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.

- Die Objektträger auf einer Wärmeplatte oder in einem Hybridizer platzieren und die Proben für 10 min bei 75°C denaturieren.
- Die Objektträger in eine Feuchtekammer überführen und über Nacht bei 37°C hybridisieren (z.B. in einem Hybridisierungssofen).

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 (distal zur NTRK3-Bruchpunktregion) und orange (proximal zur NTRK3-Bruchpunktregion).

Normale Situation: In Interphasen von normalen Zellen oder Zellen ohne eine Translokation der NTRK3-Genregion erscheinen zwei grün/orange Fusionssignale (siehe Abb. 2).

Aberrante Situation: Eine von einer Translokation betroffene NTRK3-Genregion wird durch ein separates grünes Signal und ein separates oranges Signal gekennzeichnet. Isolierte orange Signale resultieren aus Deletionen proximal zur NTRK3-Bruchpunktregion oder entstehen durch unbalancierte Translokationen dieser chromosomalen Region (siehe Abb. 2).

Sich überlagernde Signale können als gelbe Signale erscheinen.

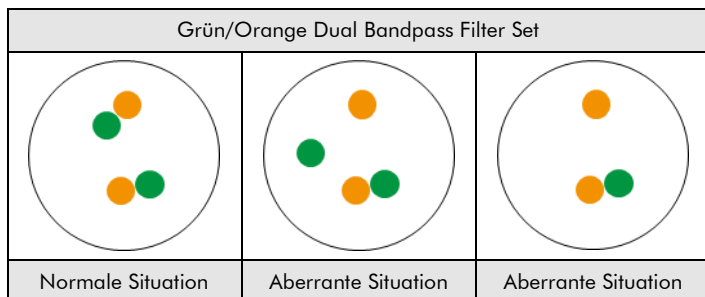


Abb. 2: Zu erwartende Ergebnisse in normalen und aberranten Zellkernen

Genomische Aberrationen aufgrund kleinerer Deletionen, Duplikationen oder Inversionen können zu unauffälligen Signalmustern führen.

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 ≤ 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 ungültig 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 Hybridisierungsgefäßes muss eine Feuchtebox verwendet werden. Zusätzlich sollte das Deckglas, z.B. mit Fixogum, vollständig versiegelt werden, um ein Austrocknen der Präparate 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-Filter</i> liefern im Vergleich zu <i>Single- oder Dual-Bandpass-Filter</i> weniger Licht. Daher können die Signale unter Verwendung von <i>Triple-Bandpass-Filter</i> schwächer erscheinen.
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	DAPI/DuraTect-Solution (ultra) (Prod. Nr. MT-0008-0.8) stattdessen verwenden
Inkubationszeit mit DAPI zu kurz	Inkubationszeit mit DAPI anpassen

18. Literatur

- Amatu A, et al. (2016) *ESMO Open* 1: e000023.
- Arce C, et al. (2005) *World J Surg Oncol* 3: 35.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Knezevich SR, et al. (1998) *Nat Genet* 18: 184-7.
- Leeman-Neill RJ, et al. (2014) *Cancer* 120: 799-807.
- Nagasubramanian R, et al. (2016) *Pediatr Blood Cancer* 63: 1468-70.
- Raez LE & Rolfo C (2016) *Lung Cancer Manag* 5: 1-4.
- Roberts KG, et al. (2014) *N Engl J Med* 371: 1005-15.
- Skálová A, et al. (2010) *Am J Surg Pathol* 34: 599-608.
- Tognon C, et al. (2002) *Cancer Cell* 2: 367-76.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.
- Wu G, et al. (2014) *Nat Genet* 46: 444-50.

Unsere Experten stehen Ihnen für Ihre Fragen zur Verfügung.
Bitte kontaktieren Sie help@zytovision.com



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

Warenzeichen:

ZytoVision® und ZytoLight® sind Warenzeichen der ZytoVision GmbH.