



FlexISH- Tissue Implementation Kit

REF Z-2182-5 Σ 5

REF Z-2182-20 Σ 20

Για χρήση σε διαδραστικές *in situ* υβριδισμού
φθορισμού (FISH)

4250380N8486



In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

σύμφωνα με τον Κανονισμό IVDR (κανονισμό για τα in vitro
διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα) (ΕΕ) 2017/746

1. Προβλεπόμενη χρήση

Το FlexISH-Tissue Implementation Kit προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με ανιχνευτές FlexISH σε σταθεροποιημένα με φορμαλίνη και ενσωματωμένα σε παραφίνη δείγματα μέσω *in situ* υβριδισμού φθορισμού (FISH).

Το προϊόν προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση. Όλες οι δοκιμές που χρησιμοποιούν το προϊόν πρέπει να εκτελούνται σε πιστοποιημένο, αδειοδοτημένο εργαστήριο παθολογικής ανατομικής από εξειδικευμένο προσωπικό, υπό την επίβλεψη παθολογοανατόμου/γενετιστή.

2. Αρχή της δοκιμής

Η τεχνική *in situ* υβριδισμού φθορισμού (FISH) επιτρέπει την ανίχνευση και την οπτικοποίηση συγκεκριμένων αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων σε κυτταρικά παρασκευάσματα. Τα επισημασμένα με φθορισμό θραύσματα DNA, οι λεγόμενοι ανιχνευτές FISH (*in situ* υβριδισμού φθορισμού), και οι συμπληρωματικοί τους κλώνοι DNA στόχου στα παρασκευάσματα συν-μετουσιώνονται και στη συνέχεια αφήνονται να ανόπτουν κατά τη διάρκεια του υβριδισμού. Κατόπιν, τα μη ειδικά και μη δεσμευμένα θραύσματα ανιχνευτή αφαιρούνται με αυστηρά βήματα πλύσης. Μετά την αντιχρώση του DNA με φθορίζουσα χρωστική DAPI, τα υβριδισμένα θραύσματα ανιχνευτή οπτικοποιούνται, χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο φθορισμού εξοπλισμένο με φίλτρα διέγερσης και εκπομπής ειδικά για τα φθοροχρωματικά, με τα οποία έχουν επισημανθεί απευθείας τα θραύσματα ανιχνευτή FISH.

3. Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Το FlexISH-Tissue Implementation Kit διατίθεται σε δύο μεγέθη και αποτελείται από τα εξής:

Κωδικός	Συστατικό	Ποσότητα		Δοχείο
		20	5	
PT1	<u>Heat Pretreatment Solution Citric</u>	500 ml	150 ml	Μπουκάλι με βιδωτό καπάκι (μεγάλο)
ES1	<u>Pepsin Solution</u>	4 ml	1 ml	Σταγονομετρικό φιαλίδιο, λευκό πώμα
WB10	<u>5x FlexISH Wash Buffer</u>	500 ml	150 ml	Μπουκάλι με βιδωτό καπάκι (μεγάλο)
MT7	<u>DAPI/DuraTect-Solution</u>	0,8	0,2	Δοχείο αντίδρασης, μπλε πώμα
	Οδηγίες χρήσης	1	1	

Z-2182-5 (5 τεστ): Τα συστατικά **ES1** και **MT7** επαρκούν για 5 αντιδράσεις. Το συστατικό **WB10** επαρκεί για 3 x 3 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα. Το συστατικό **PT1** επαρκεί για 2 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα.

Z-2182-20 (20 τεστ): Τα συστατικά **ES1** και **MT7** επαρκούν για 20 αντιδράσεις. Το συστατικό **WB10** επαρκεί για 11 x 3 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα. Το συστατικό **PT1** επαρκεί για 7 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα.

4. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- FlexISH probe
- Δείγματα θετικών και αρνητικών μαρτύρων
- Πλακίδια μικροσκοπίου, θετικά φορτισμένα
- Υδατόλουτρο (37°C, 98°C)
- Καυτή πλάκα ή υβριδιστής
- Θάλαμος υγρασίας + φούρνος υβριδισμού ή υβριδιστής
- Ρυθμιζόμενες πιπέττες (10 µl, 30 µl)
- Δοχεία ή λουτρά χρώσης
- Χρονόμετρο
- Βαθμονομημένο θερμόμετρο
- Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστήριου
- Ξυλάνιο
- Απινισμένο ή απεσταγμένο νερό
- Καλυπτρίδες (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Ελαστικό τσιμεντοειδές, π.χ., Fixogum Rubber Cement (Αρ. Προϊόντος E-4005-50/-125) ή παρόμοιο
- Επαρκώς συντηρημένο μικροσκόπιο φθορισμού (400-1000x)
- Έλαια εμβάπτισης εγκεκριμένα για μικροσκοπία φθορισμού
- Κατάλληλα σερφίλτρων

5. Αποθήκευση και χειρισμός

Φυλάσσεται στους 2-8 °C σε όρθια θέση. Επιπλέον, το DAPI/DuraTect-Solution (**MT7**) πρέπει να αποθηκεύεται προστατευμένο από το φως. Επαναφέρετε στις συνθήκες αποθήκευσης αμέσως μετά τη χρήση. Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Το προϊόν είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον γίνεται ανάλογος χειρισμός.

6. Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

- Διαβάστε τις οδηγίες χρήσης πριν από τη χρήση!
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης!
- Αυτό το προϊόν περιέχει ουσίες (σε χαμηλές συγκεντρώσεις και όγκους) που είναι επιβλαβείς για την υγεία. Αποφύγετε οποιαδήποτε άμεση επαφή με τα αντιδραστήρια. Λάβετε κατάλληλα προστατευτικά μέτρα (χρησιμοποιήστε γάντια μίας χρήσης, προστατευτικά γυαλιά και ρούχα εργαστηρίου)!
- Αναφέρετε κάθε σοβαρό περιστατικό που έχει συμβεί σχετικά με το προϊόν στον κατασκευαστή και την αρμόδια αρχή σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς!
- Εάν τα αντιδραστήρια έρθουν σε επαφή με το δέρμα, ξεπλύνετε αμέσως το δέρμα με άφθονη ποσότητα νερού!
- Κατόπιν αιτήματος διατίθεται για τον επαγγελματία χρήστη ένα δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού.
- Μην επαναχρησιμοποιείτε αντιδραστήρια, εκτός εάν η επαναχρησιμοποίηση επιτρέπεται ρητά!
- Αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση των δειγμάτων, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Τα δείγματα δεν πρέπει να αφήνονται να στεγνώσουν κατά τη διάρκεια των βημάτων υβριδισμού και πλύσης.
- Το **DAPI/DuraTect-Solution (MT7)** δεν πρέπει να εκτίθεται στο φως, ιδιαίτερα σε δυνατό φως, για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, δηλαδή όλα τα βήματα θα πρέπει να εκτελούνται, όπου είναι δυνατόν, στο σκοτάδι ή/και χρησιμοποιώντας φωτιστικές περιέκτες.

Ειδική επισημάνση του ES1:

EUH208	Περιέχει πεψίνη A. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική αντίδραση.
EUH210	Δελτίο δεδομένων ασφαλείας παρέχεται εφόσον ζητηθεί.

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης για τα PT1 και WB10:

Το συστατικό που προσδιορίζει τον κίνδυνο είναι μια μάζα αντίδρασης των εξής: 5-χλωρο-2-μεθυλο-4-ισοθειοαζολίνη-3-όνη [EK αρ. 247-500-7] και 2-μεθυλο-2Η-ισοθειοαζολ-3-όνη [EK αρ. 220-239-6] (3:1).



Προειδοποίηση

H317	Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.
P261	Αποφεύγετε να αναπνεύετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/σταγονιδία/ατμούς/εκνεφώματα.
P272	Τα μολυσμένα ενδύματα εργασίας δεν πρέπει να βγαίνουν από τον χώρο εργασίας.
P280	Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα προστασίας ματιών/προσώπου.
P302+P352	ΣΕ ΠΕΡΙ ΠΤΩΣΗΣ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ: Πλύνετε με άφθονο νερό.
P333+P313	Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Λάβετε ιατρική συμβουλή/προσοχή.
P362+P364	Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύνετε τα πριν τα επαναχρησιμοποιήσετε.

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης για το MT7:

Αυτό το προϊόν δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) Αρ. 1272/2008.

7. Περιορισμοί

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Μόνο για επαγγελματική χρήση.
- Μόνο για μη αυτοματοποιημένη χρήση.
- Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής χρώσης ή απουσίας της πρέπει να γίνεται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού, της μορφολογίας, άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων καθώς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων. Είναι ευθύνη ενός ειδικευμένου παθολογοανατόμου/γενετιστή να είναι εξοικειωμένος με τους ανιχνευτές υβριδισμού *in situ* (ISH), τα αντιδραστήρια, τα διαγνωστικά πάνελ και τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του χρωματισμένου παρασκευάσματος. Η χρώση πρέπει να πραγματοποιείται σε πιστοποιημένο, αδειοδοτημένο εργαστήριο υπό την επίβλεψη παθολογοανατόμου/γενετιστή που είναι υπεύθυνος για την επισκόπηση των χρωματισμένων πλακιδίων και τη διασφάλιση της επάρκειας των θετικών και αρνητικών μαρτύρων.
- Η χρώση του δείγματος, ειδικότερα η ένταση του σήματος και η χρώση του υποβάθρου, εξαρτώνται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του δείγματος πριν από τη χρώση. Η ακατάλληλη στερέωση, ψύξη, απόψυξη, το πλύσιμο, στένγωμα, η θέρμανση, μύηση ή μόλυνση με άλλα δείγματα ή υγρά μπορεί να προκαλέσουν τεχνουργήματα ή ψευδή αποτελέσματα. Ασυμπεπαιστωμένα αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν από διακυμάνσεις στις μεθόδους στερέωσης και ενσωμάτωσης, καθώς και από εγγενείς ανωμαλίες εντός του δείγματος.
- Η απόδοση επικυρώθηκε, χρησιμοποιώντας τις διαδικασίες που περιγράφονται στις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου ανιχνευτή και κιτ εφαρμογής ZytoVision. Τροποποιήσεις σε αυτές τις διαδικασίες ενδέχεται να αλλάξουν την απόδοση και πρέπει να επικυρωθούν από τον χρήστη. Αυτό το IVD (*in vitro* διαγνωστικό) προϊόν είναι πιστοποιημένο ως CE, μόνον όταν χρησιμοποιείται όπως περιγράφεται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης εντός του πεδίου της προβλεπόμενης χρήσης.

8. Παρεμβάλλουσες ουσίες

Τα ερυθράιμοσφαιρία που υπάρχουν στο δείγμα ενδέχεται να εμφανίζουν αυτοφθορισμό που εμποδίζει την αναγνώριση σήματος.

Τα ακόλουθα σταθεροποιητικά δεν είναι συμβατά με το ISH (*in situ* υβριδισμό):

- Σταθεροποιητικό Bouin
- B5 σταθεροποιητικό
- Όξινα σταθεροποιητικά (π.χ. πικρικό οξύ)
- Σταθεροποιητικό Zenker
- Αλκοόλες (όταν χρησιμοποιούνται μόνες τους)
- Χλωριούχος υδράργυρος
- Σταθεροποιητικό φορμαλδεΰδης/ψευδαργύρου
- Σταθεροποιητικό Hollande
- Μη ρυθμισμένη φορμαλίνη

9. Προετοιμασία δειγμάτων

Συστάσεις:

- Σταθεροποίηση σε 10% ουδέτερα ρυθμισμένη φορμαλίνη για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C).
- Μέγεθος δείγματος $\leq 0,5 \text{ cm}^3$.
- Χρησιμοποιήστε παραφίνη εξαιρετικής ποιότητας.
- Η ενσωμάτωση πρέπει να πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από 65°C.
- Προετοιμάστε τομές μικροτόμου 2-4 μm .
- Χρησιμοποιήστε θετικά φορτισμένα πλακίδια μικροσκοπίου.
- Σταθεροποιήστε για 2-16 ώρες στους 50-60°C.

10. Προπαρασκευαστική επεξεργασία της συσκευής

Το 5x FlexISH Wash Buffer (WB10) πρέπει να υποβάλλεται σε προεπεξεργασία σύμφωνα με τις οδηγίες στο κεφάλαιο 11. "Διαδικασία ανάλυσης". Όλα τα άλλα αντιδραστήρια του κιτ είναι έτοιμα για χρήση. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη ή αραιώση.

11. Διαδικασία ανάλυσης

12.1 Ημέρα 1

Προπαρασκευαστικά βήματα

1. Προετοιμάστε δύο σειρές με αιθανόλη (διαλύματα αιθανόλης 70%, 90% και 100%). Αραιώστε 100% αιθανόλη με απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό. Τα διαλύματα αυτά μπορούν να αποθηκευτούν στους κατάλληλους περιέκτες και να επαναχρησιμοποιηθούν.
2. Heat Pretreatment Solution Citric (PT1): Γεμίστε ένα δοχείο χρώσης και θερμάνετε στους 98°C.
3. FlexISH Probe: Πριν από τη χρήση, φέρτε το σε θερμοκρασία δωματίου και προστατέψτε το από το φως. Πριν ανοίξετε το φιαλίδιο, αναμείξτε το με στροβιλισμό και περιστρέψτε το για λίγο προς τα κάτω.

Προεπεξεργασία (αποκλήρωση/πρωτεύση)

1. Επώστε τα πλακίδια 2 φορές από 5 λεπτά μέσα σε ξυλένιο.
2. Επώστε σε αιθανόλη 100%, 100%, 90% και 70%, έκαστο για 2 λεπτά.
3. Πλύνετε 2 φορές από 2 λεπτά σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.
4. Επώστε για 20 λεπτά σε προθερμασμένο Heat Pretreatment Solution Citric (PT1) στους 98°C.

Συνιστούμε να μην χρησιμοποιείτε περισσότερα από 8 πλακίδια ανά δοχείο χρώσης. Αφότου βυθίσετε τα πλακίδια, ελέγξτε τη θερμοκρασία του Heat Pretreatment Solution Citric στο εσωτερικό του δοχείου και τον χρόνο έναρξης μόλις η θερμοκρασία του διαλύματος φτάσει τους τουλάχιστον 95°C.

5. Μεταφέρετε αμέσως τα πλακίδια σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό, πλύνετε από 2 φορές για 2 λεπτά και στραγγίξτε ή τινάξτε το νερό για να φύγει.
6. Εφαρμόστε (σταγόνη) Pepsin Solution (ES1) στα δείγματα και επώστε για 15 λεπτά στους 37°C σε θάλαμο υγρασίας.

Το ES1 ενδέχεται να σχηματίσει ιζήματα, τα οποία, ωστόσο, δεν επηρεάζουν την ποιότητα.

Ανάλογα με πολλούς και διάφορους παράγοντες όπως π.χ. η φύση και η διάρκεια της σταθεροποίησης, το πάχος των τομών, και η φύση των δειγμάτων, ενδέχεται να απαιτούνται διαφορετικοί χρόνοι επώσης. Ως κατευθυντήρια οδηγία περί επώσης, συνιστούμε έναν χρόνο επώσης των 2 έως 30 λεπτών. Ως γενικό κανόνα, συνιστούμε να εξακριβώνεται ο βέλτιστος χρόνος για απρωτεύση σε προδοκίμες.

7. Πλύνετε 2 φορές από 2 λεπτά σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.
8. Αφυδάτωση: σε αιθανόλη 70%, 90% και 100%, έκαστο για 1 λεπτό.
9. Στεγνώστε τα μέρη με στεγνό αέρα.

Βεβαιωθείτε ότι στεγνώσατε πλήρως τα μέρη προτού χρησιμοποιήσετε τον ανιχνευτή καθώς η υπολειπόμενη υγρασία ενδέχεται να μειώσει την ένταση των σημάτων ή/και να επηρεάσει τη μορφολογία των ιστών.

Μετουσίωση και υβριδισμός

1. Μεταφέρετε με πιπέττα 10 μl περιεχομένου του ανιχνευτή FlexISH Probe σε κάθε προεπεξεργασμένο δείγμα.

Αποφύγετε την παρατεταμένη έκθεση του ανιχνευτή στο φως.

2. Καλύψτε τα δείγματα με καλυπτρίδα 22 mm x 22 mm (αποφύγετε τις παγιδευμένες φυσαλίδες) και σφραγίστε την καλυπτρίδα.

Συνιστούμε τη χρήση ελαστικού ταιμεντοειδούς (π.χ. Fixogum) για τη σφράγιση.

3. Τοποθετήστε τα πλακίδια σε θερμή πλάκα ή υβριδιστή και μετουσίωση τα δείγματα για 10 λεπτά στους 75°C.

4. Πραγματοποιήστε υβριδισμό για 2 έως 16 ώρες (δηλαδή κατά τη διάρκεια της νύχτας) στους 37°C, μεταφέροντας τα πλακίδια είτε σε έναν υβριδιστή είτε σε θάλαμο υγρασίας και φούρνο υβριδισμού.

Είναι σημαντικό τα δείγματα να μη στεγνώνουν κατά τη διάρκεια του υβριδισμού.

12.2 Ημέρα 1 ή Ημέρα 2

Προπαρασκευαστικά βήματα

1. Προετοιμάστε το 1x FlexISH Wash Buffer: Αραιώστε 1 μέρος 5x FlexISH Wash Buffer (WB10) σε 4 μέρη απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό. Γεμίστε τρία δοχεία χρώσης με 1x FlexISH Wash Buffer, προθερμάνετε το ένα δοχείο στους 72°C και διατηρήστε τα υπόλοιπα δύο δοχεία σε θερμοκρασία δωματίου.
2. DAPI/DuraTect-Solution (MT7): Πριν από τη χρήση, φέρτε το σε θερμοκρασία δωματίου και προστατέψτε το από το φως.

Μετα-υβριδισμός και ανίχνευση

1. Αφαιρέστε προσεκτικά το ελαστικό ταιμεντοειδές ή την κόλλα.
2. Αφαιρέστε την καλυπτρίδα βυθίζοντας τα πλακίδια σε 1x FlexISH Wash Buffer σε θερμοκρασία δωματίου για 1 έως 2 λεπτά.

Για να διευκολύνετε την αφαίρεση της καλυπτρίδας, μπορείτε, εναλλακτικά, να εκτελέσετε το βήμα αυτό για 2 λεπτά σε θερμοκρασία 37°C.

3. Πλύνετε χρησιμοποιώντας 1x FlexISH Wash Buffer για 10 λεπτά στους 72°C.

Το 1x FlexISH Wash Buffer θα πρέπει να προθερμαίνεται. Εάν είναι απαραίτητο, ελέγξτε με τη χρήση θερμόμετρου. Μη χρησιμοποιείτε περισσότερα από 8 πλακίδια ανά δοχείο χρώσης.

4. Πλύνετε χρησιμοποιώντας 1x FlexISH Wash Buffer για 3 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
5. Επώστε τα πλακίδια σε αιθανόλη 70%, 90% και 100%, έκαστο για 1 λεπτό.
6. Στεγνώστε τα δείγματα προστατευμένα από το φως.
7. Μεταφέρετε με πιπέττα 25 μl φθορίζουσας χρωστικής DAPI/DuraTect-Solution (MT7) στα πλακίδια. Αποφεύγοντας τις παγιδευμένες φυσαλίδες, καλύψτε τα δείγματα με καλυπτρίδα (24 mm x 60 mm). Επώστε στο σκοτάδι για 15 λεπτά.

Με τη χρήση ενός στόμιου πιπέττας που έχει κοπεί για να αυξηθεί το μέγεθος του ανοίγματος μπορεί να διευκολυνθεί η διαδικασία της πιπέττας. Αποφύγετε την παρατεταμένη έκθεση στο φως.

8. Αποθηκεύστε τα πλακίδια στο σκοτάδι. Για μεγαλύτερες περιόδους αποθήκευσης, αυτό πρέπει να γίνεται στους 2-8°C.
9. Η αξιολόγηση του υλικού του δείγματος πραγματοποιείται με μικροσκόπιο φθορισμού. Ενδέχεται να είναι απαραίτητα τα εξής φίλτρα για το εξής εύρος μήκους κύματος:

Φθορίζουσα χρωστική	Διέγερση	Εκπομπή
ZyBlue	418 nm	467 nm
ZyGreen	503 nm	528 nm
ZyGold	532 nm	553 nm
ZyOrange	547 nm	572 nm
ZyRed	580 nm	599 nm

12. Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Με τη χρήση των κατάλληλων φίλτρων, σε ενδιάμεσες φάσεις ή μεταφάσεις φυσιολογικών κυττάρων ή κυττάρων χωρίς παρεκκλίσεις των εξεταζόμενων χρωμοσωμάτων, θα εμφανιστούν δύο σήματα ανά ανιχνευτή/επισημάνση με φθορισμό, εκτός από τους ανιχνευτές που στοχεύουν στα χρωμοσώματα X ή/και Y, με αποτέλεσμα κανένα έως δύο σήματα ανά ανιχνευτή/ανά επισημάνση με φθορισμό, ανάλογα με το φύλο. Σε κύτταρα με χρωσωμικές παρεκκλίσεις, ενδέχεται να

είναι ορατό ένα διαφορετικό μοτίβο σήματος, σε ενδιάμεσες φάσεις ή μεταφάσεις. Για περισσότερες λεπτομέρειες σχετικά με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, παρακαλούμε να ανατρέξετε στις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου ανιχνευτή.

13. Συνιστώμενες διαδικασίες ποιότητας ελέγχου

Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου ανιχνευτή ZytoVision.

14. Χαρακτηριστικά απόδοσης

Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου ανιχνευτή ZytoVision.

15. Απόρριψη

Η απόρριψη των αντιδραστηρίων πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς.

16. Αντιμετώπιση προβλημάτων

Οποιαδήποτε απόκλιση από τις οδηγίες λειτουργίας μπορεί να οδηγήσει σε κατώτερα αποτελέσματα χρώσης ή σε καθόλου χρώση. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στη διεύθυνση www.zytovision.com.

Αδύναμα σήματα ή καθόλου σήματα

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Το δείγμα δεν έχει στερεωθεί σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο στερέωσης και το σταθεροποιητικό
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία δεν πραγματοποιήθηκε σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης, αυξήστε ή μειώστε εάν είναι απαραίτητο
Εξάτμιση ανιχνευτή	Όταν χρησιμοποιείτε υβριδιστή, είναι υποχρεωτική η χρήση των υγρών λωρίδων/γεμάτων με νερό δεξαμενών. Όταν χρησιμοποιείτε φούρνο υβριδισμού, απαιτείται η χρήση ενός θαλάμου υγρασίας. Επιπλέον, η καλυπτρίδα θα πρέπει να σφραγίζεται πλήρως, π.χ. με Fixogum, για να αποφευχθεί η ξήρανση του δείγματος κατά τον υβριδισμό.
Χρησιμοποιούνται ακατάλληλα σετ φίλτρων	Χρησιμοποιήστε σετ φίλτρων κατάλληλα για τα φθοροχρωματικά του ανιχνευτή. Τα σετ φίλτρων τριπλής ζώνης παρέχουν λιγότερο φως σε σύγκριση με τα σετ φίλτρων μονής ή διπλής ζώνης. Κατά συνέπεια, τα σήματα μπορεί να φαίνονται πιο αμυδρά, εάν χρησιμοποιείτε αυτά τα σετ φίλτρων τριπλής ζώνης.

Διαταυρούμενα σήματα υβριδισμού: Θορυβώδες υπόβαθρο

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Ατελής αποκλήρωση	Χρησιμοποιήστε φρέσκα διαλύματα· ελέγξτε τη διάρκεια της αποκλήρωσης
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία είναι πολύ ισχυρή	Μειώστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης
Τα πλακίδια ψύχονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τον υβριδισμό	Μεταφέρετε τα πλακίδια γρήγορα στους 37 °C

Υποβαθμισμένη μορφολογία

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Το δείγμα δεν έχει στερεωθεί σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο στερέωσης και το σταθεροποιητικό
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία δεν πραγματοποιήθηκε σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης, μειώστε εάν είναι απαραίτητο
Ανεπαρκές στέγνωμα πριν από την εφαρμογή του ανιχνευτή	Επεκτείνετε το στέγνωμα στον αέρα

Αλληλεπικαλυπτόμενοι πυρήνες

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Ακατάλληλο πάχος τομών ιστού	Προετοιμάστε τομές με κροτόμου 2-4 μm

Το δείγμα επιπλέει στο πλακίδιο

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία είναι πολύ ισχυρή	Μειώστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης

Αδύναμη αντίχρωση

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Χαμηλής συγκέντρωσης διάλυμα φθορίζουσας χρωστικής DAPI	Αντί αυτού, χρησιμοποιήστε DAPI/DuraTect-Solution (ultra) (Αρ. Προϊόντος MT-0008-0.8)
Ο χρόνος επώασης της φθορίζουσας χρωστικής DAPI είναι πολύ μικρός	Προσαρμόστε τον χρόνο επώασης της φθορίζουσας χρωστικής DAPI

17. Βιβλιογραφία

- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

18. Αναθεώρηση



www.zytovision.com

Ανατρέξτε στη διεύθυνση www.zytovision.com για τις πιο πρόσφατες οδηγίες χρήσης καθώς και για οδηγίες χρήσης σε διάφορες γλώσσες.

Οι ειδικοί μας είναι πρόθυμοι να απαντήσουν στις ερωτήσεις σας.

Επικοινωνήστε στη διεύθυνση help@zytovision.com



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven / Γερμανία
Τηλέφωνο: +49 471 4832-300
Φαξ: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
E-Mail: info@zytovision.com

Εμπορικά σήματα:

Τα ZytoVision® και F/exlSH® είναι εμπορικά σήματα της ZytoVision GmbH.