



ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit

REF	Z-2020-5	Σ	5
REF	Z-2020-20	Σ	20

A humán ERBB2 génamplifikáció és a 17-es kromoszóma alfa-szatellita régió kvalitatív kimutatása fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) módszerrel



In vitro diagnosztikai orvosi eszköz
a 98/79 / EK EU irányelv szerint

1. Javasolt alkalmazás

A ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit a humán ERBB2 génamplifikáció és a 17-es kromoszóma alfa-szatellita régió kvalitatív kimutatására szolgál fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) módszerrel formalinnal fixált, paraffinba ágyazott minták alkalmazására humán emlő és gyomorrák szövetmintái esetén.

Az eredmények értelmezését a beteg klinikai kórtörténetével összevetve kell elvégezni képzett patológus további klinikopatológiai véleményének figyelembe vételével.

2. Klinikai jelentőség

Az ERBB2 (epidermális növekedési faktor receptor) gén a 17q12 kromoszóma régióban helyezkedik el és a 185-190 kDa molekulatömegű, celluláris növekedési faktor receptor p185 transzmembrán glikoproteint kódolja. A p185 fehérje az RTK (receptor tirozin kináz) szuperfamilia EGFR (epidermális növekedési faktor receptor) alcsoportjába tartozik az EGFR1 (ERBB1), az ERBB3 (HER3) és ERBB4 (HER4) fehérjékkel együttvéve. Az emlő daganatok mintegy 20%-ában leírt ERBB2 proto-onkogén amplifikáció a betegség rossz prognózisával hozható összefüggésbe. Hasonló eredmények igazolhatók egyéb malignus daganatok, mint pl. petefészek tumorok, gyomor tumorok és nyálmirigy karcinómák esetében.

3. Vizsgálati módszer

A fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) technika lehetővé teszi sejt preparátumok specifikus nukleinsav szekvenciáinak kimutatását és megjelenítését. A fluoreszcensen jelölt DNS fragmentumok, úgynevezett FISH próbák vagy szondák és azok komplementer cél-DNS szárai a készítményekben együttesen denaturálódnak, majd a hibridizálás során összekapcsolódnak. Ezután a nem specifikus és a nem kötődött próba darabok magas stringenciájú mosási lépésekkel kerülnek eltávolításra. A DNS DAPI háttérfestését követően a hibridizált szonda fragmentumok a közvetlenül rájuk kapcsolt specifikus fluorokrom molekulák segítségével excitációs és emissziós szűrőkkel felszerelt fluoreszcens mikroszkóppal vizualizálhatók.

4. Mellékelt reagensek

A ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit két kiserelésben érhető el és a következő összetevőkből áll

Kód	Összetevő	Mennyiség		Tároló
		5	Σ 20	
PT1	Heat Pretreatment Solution Citric	150 ml	500 ml	Csavar-tetős üveg (nagy)
ES1	Pepsin Solution	1 ml	4 ml	Cseppentő üveg, fehér tetővel
WB1	Wash Buffer SSC	210 ml	560 ml	Csavar-tetős üveg (nagy)
PL8	ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe	0.05 ml	0.2 ml	Reakció tartály, piros tetővel
WB2	25x Wash Buffer A	50 ml	2x50 ml	Csavar-tetős üveg (közepes)
MT7	DAPI/DuraTect-Solution	0.2 ml	0.8 ml	Reakció tartály, kék tetővel
	Használati útmutató	1	1	

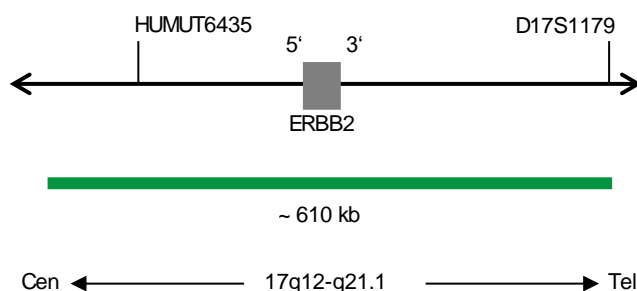
Z-2020-5 (5 teszt): Az **ES1**, **PL8**, és az **MT7** összetevők 5 reakcióhoz elegendők. A **WB2** összetevő 5x3db 70ml-es festőedénybe elegendő. A **PT1** összetevő 2db 70ml-es festőedénybe elegendő. A **WB1** komponens 3db 70ml-es festőedénybe elegendő.

Z-2020-20 (20 teszt): Az **ES1**, **PL8**, és az **MT7** összetevők 20 reakcióhoz elegendők. A **WB2** összetevő 11x3db 70ml-es festőedénybe elegendő. A **PT1** összetevő 7db 70ml-es festőedénybe elegendő. A **WB1** komponens 8db 70ml-es festőedénybe elegendő.

A ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (PL8) készlet tartalma:

- ZyGreen (gerjesztő hullámhossz 503 nm/kibocsátási hullámhossz 528 nm) zöld festékekkel megjelölt polinukleotidok (~10.0 ng/μl), amelyek cél szekvenciái az ERBB2 gén régióját magába foglaló 17q12-q21.1* (chr17:37,572,531-38,181,308) kromoszóma régióban helyezkednek el (lásd 1. ábra).
- ZyOrange (gerjesztő hullámhossz 547 nm/kibocsátási hullámhossz 572 nm) narancssárga festékekkel megjelölt polinukleotidok (~1.5 ng/μl), amelyek cél szekvenciái a 17p11.1-q11.1 kromoszóma régió specifikus alfa-szatellita centromerikus D17Z1 régiójában helyezkednek el a 17-es kromoszómán.
- Formamid alapú hibridizációs puffer

*a Human Genome Assembly szerint GRCh37/hg19



1. ábra: SPEC ERBB2 Próba térkép (nem méretarányos)

5. Szükséges, de nem biztosított anyagok

- Pozitív és negatív kontroll minták
- Pozitívra töltött tárgylemezek
- Vízfürdők (37°C, 98°C)
- Hibridizációs kamra vagy fűtőblokk
- Hibridizációs pára kamra
- Szabályozható pipetták (10 μl, 25 μl)
- Festőedények vagy fürdők
- Időzítő
- Kalibrált hőmérő
- Etanol
- Xilol
- Deszillált vagy ionmentesített víz
- Fedőlemezek (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Gumicement pl., Fixogum Rubber Cement

(Kat. Szám. E-4005-50/-125) vagy hasonló ragasztó

- Megfelelően karbantartott fluoreszcens mikroszkóp (400-1000x)
- Fluoreszcens mikroszkópiához elfogadott immerziós olaj
- Megfelelő fluoreszcencia szűrő készletek

6. Tárolás és kezelés

A reagens készlet összetevőit 2-8°C között szükséges tárolni. A DAPI/DuraTect-Solution (MT7) és a próba keverék **(PL8)** fénytől védve tárolandó. Felhasználást követően azonnal a tárolási feltételek alkalmazandók. A tárolási feltételek betartása esetén a készlet teljesítmény-csökkenés nélkül működik a címkén feltüntetett lejárati ideig. Ne használja reagenseket a címkén feltüntetett lejárati időn túl.

7. Figyelmeztetések és óvintézkedések

- Használat előtt olvassa el a használati utasítást!
- Ne használja a reagenseket a lejárati idő letelte után!
- Ez a termék olyan anyagokat tartalmaz (kis koncentrációban és térfogatban), amelyek az egészségre károsak és potenciálisan fertőzők. Kerülje a közvetlen érintkezést a reagensekkel. Tegyen megfelelő védőintézkedéseket (használjon eldobható kesztyűt, védőszemüveget és laboratóriumi öltözetet)!
- Ha a reagens bőrrel érintkezik, azonnal öblítse le bő vízzel!
- Foglalkozásszerű felhasználók részére igény esetén anyagbiztonsági adatlapot biztosítunk.
- A reagensek nem újra felhasználhatók.
- A mintákat ne hagyja kiszáradni a hibridizáció és a mosási lépések során!
- A próba keverék **(PL8)** és a DAPI/DuraTect-Solution (MT7) nem tehető ki fénynek, különösen hosszú időn keresztül tartó erős fénynek, azaz a lépéseket lehetőleg sötétben és/vagy a fényt kizáró tárolókban szükséges elvégezni!

Veszélyek és óvintézkedések a PL8 reagens kapcsán:

A legfőbb veszélyt jelentő összetevő a formamid.



Veszély

H351	Feltehetően rákot okoz.
H360FD	Károsíthatja a termékenységet. Károsíthatja a születendő gyermeket.
H373	Ismétlődő vagy hosszabb expozíció esetén károsíthatja a szerveket.
P201	Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat.
P202	Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.
P260	A por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzése tilos.
P280	Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.
P308+P313	Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.
P405	Elzárva tárolandó.

Veszélyességi és óvintézkedésre vonatkozó utasítások a PT1, WB1 és WB2 összetevők esetében:

A veszélyt jelentő összetevő az alábbiak keveréke: 5-klór-2-metil-4-izotiazolin-3-on [EC. 247-500-7] és 2-metil-2H-izotiazol-3-on [EC. 220-239-6] (3: 1).



Figyelem

H317	Allergiás bőrreakciót válthat ki.
P261	Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését.
P272	Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről.
P280	Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.
P302+P352	HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő vízzel.
P333+P313	Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni.
P362+P364	A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni.

8. Korlátozások

- *In vitro* diagnosztikai használatra.
- Csak szakképzett felhasználók részére.
- A pozitív reakció meglétének vagy hiányának klinikai értelmezését a klinikai kórtörténet, morfológia, egyéb hisztopatológiai kritériumok, valamint más diagnosztikai vizsgálatok függvényében végezze. A szakképzett patológus felelőssége a reakciók elkészítéséhez szükséges FISH szondák, reagens, diagnosztikai panelek és módszerek megfelelő ismerete. A FISH festést egy hitelesített, szükséges engedélyekkel rendelkező laboratóriumban kell végezni, patológus felügyelete mellett, aki felelős a festett lemezek áttekintéséért és a megfelelő pozitív és negatív kontroll reakciók biztosításáért.
- A minta festése, különösen a jelintenzitás és a háttérfestés erőssége a festést megelőző mintakezeléstől és feldolgozástól függ. A minta nem megfelelő fagyasztása, felolvasztása, mosása, szárítása, melegítése vagy más mintákkal és folyadékokkal való keresztszennyezése műtermékek vagy hamis eredmények kialakulásához vezethet.
- A reagens teljesítménye a jelen használati utasításban leírt eljárások alkalmazásával került validálásra. Ezen eljárások módosítása a teljesítmény megváltozását okozhatja, amit a felhasználónak validálnia szükséges.

9. Interferenciát kiváltó anyagok

A mintában jelen lévő vörösvértestek autofluoreszcenciát mutathatnak akadályozva a megfelelő jelfelismerést.

Az alábbi fixálószer nem alkalmazhatóak FISH reakcióhoz:

- Bouin fixáló
- B5 fixáló
- Savas fixálószer (pl. pikrinsav)
- Zenker fixáló
- Alkohokok (önmagukban használva)
- Higanyklorid
- Formaldehid/cink fixáló
- Hollande fixáló
- Nem pufferolt formalin

10. A minták előkészítése

Ajánlások:

- Fixálja a mintát 10%-os semlegesre pufferelt formalinban 24 órán át szobahőmérsékleten (18-25°C-on).
- A minta mérete ≤ 0.5 cm³ legyen.
- Prémium minőségű paraffint használjon.
- A beágyazást 65°C alatti hőmérsékleten hajtsa végre.
- 2-4 μm vastagságú metszeteket készítsen.
- Pozitívan töltött tárgylemezeket használjon.
- Fixálja a metszetet a lemezre 2-16 órán át 50-60°C-os hőmérsékleten.

11. A reagensek előkészítése

A **25x Wash Buffer (WB2)** reagenst a 12. "A vizsgálati eljárás" utasításai szerint előkészíteni. A készlet többi reagense felhasználásra kész. Nincs szükség feloldásra, keverésre vagy hígításra. Használat előtt hozzá szobahőmérsékletre (18-25°C) fénytől védve. Mielőtt kinyitná a próbát tartalmazó fiolát vortexeléssel keverje össze és rövid ideig centrifugálja.

12. Vizsgálati eljárás

12.1 1. nap

Előkészítő lépések

- (1) *Készítsen két etanol-sorozatot (70%, 90%, és 100% etanol-sorozat):* Hígítson 100%-os etanolt ionmentesített vagy desztillált vízzel. Ezek az oldatok megfelelő tárolóedényekben eltárolhatók és újra felhasználhatók
- (2) *Heat Pretreatment Solution Citric (PT1):* Melegítse elő 98°C-ra.
- (3) *Wash Buffer SSC (WB1):* Szobahőmérsékletre (RT) hozni.
- (4) *ZytoLight FISH Probe:* Használat előtt szobahőmérsékletre hozni és fénytől óvni.

Opcionális, amennyiben utó-fixálást végez:

(erősen ajánlott, ha a szövet rögzítése nem megfelelő)

Készítsen 1%-os Formaldehid oldatot a Formaldehyde Dilution Buffer Set készlet (PT-0006-100) használatával.

Előkezelés (deparaffinálás/proteolízis)

- (1) Inkubálja a lemezeket 10 percig 70°C-on (pl. fűtőblokkon).
- (2) Inkubálja a lemezeket xilolban 2x 10 percig.
- (3) Inkubáljon 100%, 100%, 90% és 70% etanol-sorozatban, mindegyikben 5 percig.
- (4) Mossa a lemezeket 2x 2 percig ionmentesített vagy desztillált vízzel.
- (5) Inkubálja a lemezeket 15 percig az előmelegített **Heat Pretreatment Solution Citric (PT1)** reagensben 98°C-on.

Javasoljuk, hogy ne használjon egyszerre több mint nyolc lemezt festő edényenként.

- (6) Azonnal tegye át a tárgylemezeket ionmentesített vagy desztillált vízbe, mossa 2x 2 percig és folyassa le róluk a vizet.
- (7) Adjon (csepegtetve) **Pepsin Solution (ES1)** reagenst a mintákhoz és inkubálja őket párakamrában 15 percig 37°C-on.

Több tényezőől pl. a rögzítés jellegétől és időtartamától, a metszetek vastagságától és a szövet/sejtek jellegétől függően különböző inkubációs időkre lehet szükség. Iránymutatásként 2–30 perc inkubációs időt javasolunk a szövetmintákhoz és 2-15 percet a sejtmintákhoz. Általános szabályként azt javasoljuk, hogy elő vizsgálatokban ellenőrizze a proteolízis optimális idejét.

- (8) Mossa meg a lemezeket 5 percig **Wash Buffer SSC (WB1)** reagensben.

Opcionális, amennyiben utó-fixálást végez:

Inkubálja a lemezeket 15 percig 1%-os Formaldehid oldatban és ezt követően mossa meg őket 5 percig **Wash Buffer SSC (WB1)** reagensben.

- (9) Mossa a lemezeket 1 percig ionmentesített vagy desztillált vízzel.
- (10) Dehidratálás: 70%, 90% és 100% etanolban, mindegyikben 1 percig.
- (11) Szárítás levegőn.

Megjegyzés: Győződjön meg róla, hogy a szondák alkalmazása előtt a metszetek teljesen megszáradtak, mivel a maradék nedvesség csökkentheti a jelintenzitást és/vagy befolyásolhatja a szöveti morfológiát.

Denaturáció és hibridizáció

- (1) Pipetázzon 10 µl **ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe** reagenst minden előkezelt mintára.

A próbát ne tegye ki hosszabb idejű, erős fénynek.

- (2) Fedje le a mintákat 22 mm x 22 mm fedőlemezzel (kerülje a csapdázott buborékok kialakulását) és ragassza le a fedőlemezt.

Gumicement (pl. Fixogum Rubber Cement) ragasztó használatát javasoljuk.

- (3) Helyezze a tárgylemezeket fűtőblokkra vagy hibridizátorra és denaturálja a mintákat 10 percig 75°C-on.

- (4) Tegye át a tárgylemezeket párakamrába és egy éjszakán át hibridizálja őket 37°C-on (pl. hibridizációs párakamrában).

Lényeges, hogy a szövet/sejtminták ne száradjanak ki a hibridizációs lépés során.

12.2 2. nap

Előkészítő lépések

- (1) *Az 1x Wash Buffer A előkészítése:* Hígítson 1 rész **25x Wash Buffer A (WB2)** reagenst 24 rész ionmentesített vagy desztillált vízzel. Töltsön meg három festőedényt az 1x Wash Buffer A reagenssel és melegítse elő 37°C-ra.
- (2) **DAPI/DuraTect-Solution (MT7):** Használat előtt szobahőmérsékletre hozni és fénytől óvni.

Poszt-hibridizáció és detektálás

- (1) Óvatosan távolítsa el a ragasztót.
- (2) Úsztassa le a fedőlemezt 37°C-os 1x Wash Buffer A reagensbe merítve 1-3 percig.
- (3) Mossa meg a lemezeket 37°C-os 1x Wash Buffer A reagensben 2x 5 percig.

Az 1x Wash Buffer A reagenst elő kell melegíteni. Szükség esetén ellenőrizze a hőmérsékletét.

- (4) Inkubálja a lemezeket 70%, 90% és 100% etanolban, mindegyikben 1 percig.
- (5) Fénytől védve szárítsa meg levegőn a mintákat.
- (6) Pipetázzon 25 µl **DAPI/DuraTect-Solution (MT7)** reagenst a lemezekre. Kerülve a buborékképződést fedje le a mintákat fedőlemezzel (24 mm x 60 mm). Inkubálja sötétben 15 percig.

A pipettahegy végének levágása és a nyílás méretének növelése könnyítheti a pipettázást. Kerülje a fénynek való hosszabb kitettséget.

- (7) A lemezeket sötétben kell tartani. Hosszabb idejű tárolás esetén helyezze őket 2-8°C-ra.
- (8) A reakciók kiértékelése fluoreszcens mikroszkópiát igényel. Az alábbi hullámhossz tartományokkal rendelkező szűrő készletek szükségesek:

Fluoreszcens festék	Excitáció	Emisszió
ZyGreen	503 nm	528 nm
ZyOrange	547 nm	572 nm

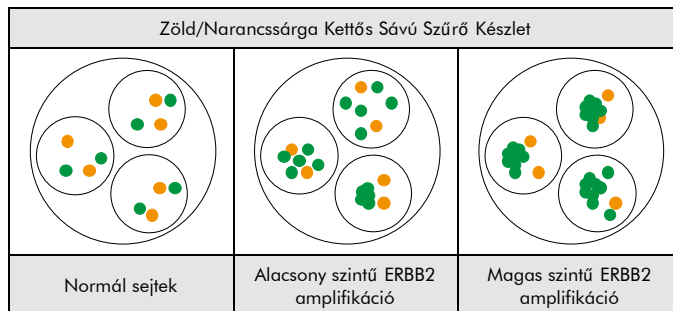
13. Az eredmények kiértékelése

Megfelelő fluoreszcencia szűrő készletek használatával a próbák hibridizációs jelei zöld (ERBB2 gén régió) és narancssárga (17-es kromoszóma centromerikus régió) színűnek látszódnak.

Normál jelrendszer: Normál sejtek interfázisos sejtmagjaiban vagy ERBB2 gén régió amplifikáció nélküli sejtekben két zöld jel és két narancssárga színű jel látható (lásd 2. ábra).

Rendellenes jelrendszer: Az ERBB2 gén régió amplifikációjával rendelkező sejtekben megnövekedett számú zöld jel vagy zöld jel klaszter figyelhető meg (lásd 2. ábra).

Az egymással átfedő jelek citromsárgának tűnhetnek.



2. ábra: Várt eredmények normál és rendellenes sejtmagok esetén

Néhány abnormális mintában a fent leírt két típustól eltérő jelmezintázat-eloszlás figyelhető meg, mely egyéb variáns géntárendező désre utal. Ezen nem várt szignál mintázatok további vizsgálatokat igényelhetnek.

Kérjük, vegye figyelembe:

- A dekonzenzált kromatinszerkezet következtében egyes FISH jelek kis szignál klaszterekként jelentkezhetnek. Így kettő vagy három egyforma méretű szignál egymástól ≤ 1 szignál átmérő távolsággal elválasztva egy szignálnak számolandó.
- Ne értékeljen egymással átfedésben levő sejtmagokat.
- Ne számolja a túlemésztett sejtmagokat (amelyek a sejttagon belüli sötét területek alapján ismerhetők fel).
- Ne számolja az erős autofluoreszcenciával rendelkező sejtmagokat, ami a jelek felismerését gátolhatja.
- Negatív vagy nem specifikus eredményt számos tényező kiválthat (lásd a 17. fejezetet).
- Az eredmények helyes interpretálása érdekében a terméket a diagnosztikai eljárásokban történő felhasználás előtt a felhasználónak validálnia kell a nemzeti és/vagy nemzetközi iránymutatások szerint.

14. Ajánlott minőségellenőrzési eljárások

A feldolgozott minták és a vizsgálati reagensek pontos hatékonyságának felmérése érdekében minden vizsgálathoz belső és külső kontroll festéseket kell végezni. Amennyiben a belső és/vagy külső pozitív kontroll reakciók nem mutatnak megfelelő festődést, akkor a beteg vizsgált mintájának eredményét érvénytelennek kell tekinteni.

Belső kontroll: Az elemzett mintában lévő nem neoplasztikus sejtek pl. fibroblasztok normál szignál mintázatot mutatnak.

Külső kontroll: Validált pozitív és negatív kontroll minták.

15. Teljesítményjellemzők

Olvassa el az adott sonda használati utasítását.

16. Hulladékkezelés

A reagensek hulladékként történő elhelyezését az országos szabályozásokkal összhangban kell elvégezni.

17. Hibaelhárítás

A használati utasítástól való bármilyen eltérés gyengébb vagy akár teljesen negatív festési eredményekhez vezethet.

Gyenge jel vagy nincs jel

Valószínűsíthető ok	Javasolt teendő
A célszekvencia nem kimutatható	Használjon megfelelő kontrollokat
A sejt- vagy szövetminta nem megfelelően fixálódott	Optimalizálja a fixálás idejét és a fixálószer vagy használjon utófixálási lépést a "12. Vizsgálati eljárás" fejezetben leírtak alapján
A melegítés előkezelési, az emésztési, a denaturációs, a hibridizációs vagy a magas stringenciájú mosás hőmérséklete nem megfelelő	Kalibrált hőmérővel ellenőrizze a használt műszaki berendezések hőmérsékletét
Nem megfelelő proteolitikus előkezelés	Optimalizálja a pepszines emésztés inkubációs idejét, szükség esetén növelje vagy csökkentse azt
A próbakeverék párolgása	Hibridizációs pára kamra használata esetén a nedvesített csíkok/vízrel töltött tartályok használata kötelező. Hibridizációs fűtőblokk használata esetén gondoskodjon megfelelő páratartalomról. Ezenkívül a fedőlemezt teljesen le kell zárni, például Fixogum ragasztóval, a minta kiszáradását a hibridizáció során elkerülendő

A magas stringenciájú mosópuffer koncentrációja túl alacsony	Ellenőrizze a Wash Buffer A reagens koncentrációját
Régi dehidratáló oldatok	Készítsen friss dehidratáló oldatokat
A fluoreszcens mikroszkóp nem működik megfelelően	Ellenőrizze a mikroszkópot
Nem megfelelő szűrőkészletet használ	Használjon a fluorokrómoknak megfelelő szűrőkészleteket. <i>A hármas szűrőszett készletek kevesebb fényt biztosítanak, mint a mono- vagy kettős szűrők. Ennek következtében a jelek a hármas szűrőszett készlet használatával gyengébbek lehetnek</i>
A próbák/fluorokrómok fény által károsodhattak	A hibridizációt és a mosási lépéseket sötétben végezze

Keresztreagáló fluoreszcens jelek; magas háttérzaj

Valószínűsíthető ok	Javasolt teendő
A paraffin-mentesítés nem megfelelő	Használjon friss oldatokat; ellenőrizze a paraffin-mentesítés időtartamát
Túl erős proteolitikus előkezelés	Csökkentse a pepszines inkubáció idejét
Túlságosan nagy a próba mennyisége az adott területre	Csökkentse a próba mennyiségét a hibridizációs terület arányához mérten, cseppenként ossza szét a próbát elkerülve a túlkonzentrálódást
A tárgylemezek szobahőmérsékletűre hűltek a hibridizációt megelőzőleg	Tegye a tárgylemezeket mielőbb 37°C-ra
A magas stringenciájú mosópuffer koncentrációja túl magas	Ellenőrizze a Wash Buffer A reagens koncentrációját
A hibridizációt követő mosási lépés hőmérséklete túl alacsony	Ellenőrizze a hőmérsékletet; szükség esetén emelje azt
A minták kiszáradnak az egyes inkubációs lépések között	A fedőlemezek leragasztásával akadályozza meg a kiszáradást és az inkubációt nedvesített körülmények között végezze

Károsodott szöveti morfológia

Valószínűsíthető ok	Javasolt teendő
A sejt- vagy szövetminta nem megfelelően fixálódott	Optimalizálja a fixálás idejét és a fixálószer vagy használjon utófixálási lépést a "12. Vizsgálati eljárás" fejezetben leírtak alapján
Nem megfelelő proteolitikus előkezelés	Optimalizálja a pepszines emésztés inkubációs idejét, szükség esetén növelje vagy csökkentse azt
A minta elégtelen száradása a próba alkalmazása előtt	Növelje a levegőn történő száradás idejét

Átfedő sejtmagok

Valószínűsíthető ok	Javasolt teendő
A metszetek vastagsága nem megfelelő	Készítsen 2-4 μm vastagságú metszeteket

A metszet leúszik a tárgylemezről

Valószínűsíthető ok	Javasolt teendő
A tárgylemez bevonata nem megfelelő	Használjon megfelelő (pozitívan töltött) tárgylemezeket
Túl erős proteolitikus előkezelés	Csökkentse a pepszines emésztés inkubációs idejét

Gyenge háttérfestés

Valószínűsíthető ok	Javasolt teendő
Alacsony koncentrációjú DAPI oldat	Használja a <u>DAPI/DuraTect-Solution (ultra)</u> (Kat.szám MT-0008-0.8) terméket
A DAPI festés inkubációs ideje túl rövid	Állítsa be megfelelően a DAPI festés inkubációs idejét

18. Hivatkozások

- 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.

Szakembereink készséggel válaszolnak kérdéseikre.

Vegye fel velünk a kapcsolatot a help@zytovision.com címen.



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

Védjegy:

A ZytoVision® és a ZytoLight® a ZytoVision GmbH védjegyei.