



**ZytoLight**

## **SPEC NTRK3 Dual Color Break Apart Probe**

**REF** Z-2206-50  $\nabla_{\Sigma}$  5 (0.05 ml)

**REF** Z-2206-200  $\nabla_{\Sigma}$  20 (0.2 ml)

Do jakościowej detekcji translokacji obejmującej ludzki locus NTRK3 w 15q25.3 metodą fluorescencyjnej hybrydizacji *in situ* (FISH)



Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*  
zgodnie z dyrektywą 98/79/WE

### 1. Przeznaczenie

ZytoLight SPEC NTRK3 Dual Color Break Apart Probe (PL164) jest przeznaczony do jakościowej detekcji translokacji obejmującej ludzki locus NTRK3 w 15q25.3 w próbkach cytologicznych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie takich jak komórki białaczkowe metodą fluorescencyjnej hybrydizacji *in situ* (FISH). Sonda jest przeznaczona do stosowania w połączeniu z zestawem ZytoLight FISH Implementation Kits (Nr. kat. Z-2028-5/-20, lub Z-2099-20).

Interpretacja wyników musi być wykonana przez wykwalifikowanego patologa w kontekście klinicznej historii pacjenta w odniesieniu do pozostałych klinicznych i patologicznych danych pacjenta.

### 2. Znaczenie kliniczne

NTRK3 (neurotrophic receptor tyrosine kinase 3, a.k.a. TRKC) jest receptorową kinazą tyrozynową (TK) neurotrofyny 3 (NT3) i odgrywa kluczową rolę w rozwoju osi rdzowej i obwodowego układu nerwowego, a także w przeżyciu komórek. Opisano translokacje wpływające na gen NTRK3 w kilku typach raka, w tym w gleziakach, ostrej białaczce limfoblastycznej typu Philadelphia, wrodzonych włókniakomięsakach, komórkowych nerczakach mezoblastycznych, ostrej białaczce szpikowej, raku tarczycy związanym z promieniowaniem, wydzielniczym raku piersi i analogicznym raku wydzielniczym sutka gruczołu ślinowego. Najczęstszą reorganizacją obejmującą gen NTRK3 jest t(12;15) (p13.2;q25), która powoduje fuzję pomiędzy 5' końcem genu ETV6 a 3' końcem genu NTRK3. Ten gen fuzyjny koduje białko hybrydowe obejmujące domenę TK NTRK3 i domenę dimerizacji ETV6, która prowadzi do aktywności TK niezależnej od ligandu. Leczenie pacjentów z nowotworami NTRK1, 2 lub 3 z fuzją dodatnią inhibitorem NTRK, takim jak leki zatwierdzone przez FDA, larotrekty nib lub entrekty nib, wiąże się z wysokim odsetkiem odpowiedzi, niezależnie od genu NTRK, partnera fuzyjnego i typu nowotworu. Dlatego detekcja translokacji NTRK2 metodą fluorescencyjnej hybrydizacji *in situ* (FISH) może mieć znaczenie diagnostyczne i terapeutyczne.

### 3. Zasada testu

Technika fluorescencyjnej hybrydizacji *in situ* (FISH) umożliwia wykrywanie i wizualizację określonych sekwencji kwasów nukleinowych w preparatach komórkowych. Fluorescencyjnie oznakowane fragmenty DNA, nazwane sondami, i ich komplementarne docelowe nici DNA w preparatach są wspólnie denaturowane, a następnie łączą się podczas hybrydizacji. Niespecyficzne i niezwiązane fragmenty sondy są usuwane przez stopniowe przemywanie. Po barwieniu kontrastowym DNA za pomocą DAPI, zhybrydizowane fragmenty sondy są zwizualizowane za pomocą mikroskopu fluorescencyjnego wyposażonego w filtry wzbudzenia i emisji specyficzne dla fluorochromów, którymi fragmenty sondy FISH zostały oznakowane.

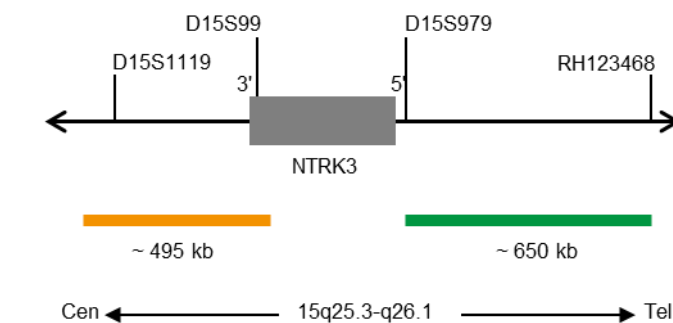
### 4. Dostarczone odczynniki

ZytoLight SPEC NTRK3 Dual Color Break Apart Probe składa się z:

- ZyGreen (wzbudzenie 503 nm/emisja 528 nm) wyznakowane polinukleotydy (~10.0 ng/ $\mu$ l), których docelowe sekwencje są zmapowane w 15q25.3-q26.1\* (chr15:88,825,346-89,475,889) dystalnie do regionu punktu przerwania NTRK3 (patrz Rys. 1).
- ZyOrange (wzbudzenie 547 nm/emisja 572 nm) wyznakowane polinukleotydy (~4.5 ng/ $\mu$ l), których docelowe sekwencje są zmapowane w 15q25.3\* (chr15:87,976,717-88,471,002) proksymalnie do regionu punktu przerwania NTRK3 (patrz Rys. 1).

- Bufor do hybrydizacji oparty na formamidzie

\* zgodnie z Human Genome Assembly GRCh37/hg19



Rys. 1: SPEC NTRK3 Mapa sondy (bez skali)

ZytoLight SPEC NTRK3 Dual Color Break Apart Probe jest dostępny w dwóch rozmiarach:

- Z-2206-50: 0.05 ml (5 reakcji po 10  $\mu$ l każda)
- Z-2206-200: 0.2 ml (20 reakcji po 10  $\mu$ l każda)

### 5. Materiały wymagane, ale nie dostarczane

- Pozytywny i negatywny preparat kontrolny
- Hybrydizator lub płyta grzewcza
- Hybrydizator lub komora wilgotnościowa w ciepłarni do hybrydizacji
- Timer
- Barwiacze
- Skalibrowany termometr
- Regulowane pipety (10  $\mu$ l, 25  $\mu$ l)
- Etanol lub odczynnik alkoholowy
- Dejonizowana lub destylowana woda
- Szkiełka nakrywkowe (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Rubber cement, np. Fixogum Rubber Cement (Nr. kat. E-4005-50/-125) lub podobny
- Odpowiednio utrzymany mikroskop fluorescencyjny (400-1000x)
- Olejek immersyjny zatwierdzony do mikroskopii fluorescencyjnej
- Odpowiedni zestaw filtrów

#### Preparaty cytologiczne

- ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit (Nr. kat. Z-2099-20)
- Szkiełka mikroskopowe, niepokryte
- Łażnia wodna (70°C)
- 2x Saline-Sodium Citrate (SSC), np., z 20x SSC Solution (Nr. kat. WB-0003-50)

## Preparaty FFPE

- ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit (Nr. kat. Z-2028-5/-20)
- Szkiełka mikroskopowe, pozytywnie naładowane
- Łażnia wodna (37°C, 98°C)
- Ksylen

## 6. Przechowywanie i obsługa

Przechowywać w temperaturze 2-8°C w pozycji pionowej chroniąc przed światłem.

Używać chroniąc przed światłem. Powrócić do warunków przechowywania natychmiast po użyciu. Nie należy używać odczynników po upływie terminu ważności podanego na etykiecie. Produkt jest stabilny do daty ważności podanej na etykiecie, gdy jest odpowiednio przechowywany.

## 7. Ostrzeżenie i środki ostrożności

- Przeczytaj instrukcję użytkowania przed użyciem!
- Nie stosować odczynników po przekroczeniu daty ważności!
- Produkt ten zawiera substancje (w małym stężeniu i objętości), które są szkodliwe dla zdrowia i potencjalnie zakaźne. Unikaj jakiegokolwiek bezpośredniego kontaktu z odczynnikami. Podejmij odpowiednie środki ochronne (stosuj rękawiczki ochronne, okulary ochronne i odzież laboratoryjną)!
- Jeśli odczynniki wejdą w kontakt ze skórą, natychmiast ołucz skórę dużą ilością wody!
- Karta charakterystyki substancji niebezpiecznej jest dostępna na żądanie profesjonalnego użytkownika.
- Nie używaj ponownie odczynników.
- Unikaj krzyżowego zanieczyszczenia próbek, które może prowadzić do błędnych wyników.
- Sonda nie powinna być ekspozycja na światło, zwłaszcza silne światło, przez dłuższy okres czasu, np. wszystkie kroki powinny zostać wykonane, jeśli to możliwe, w ciemności i/lub używając pojemników odpornych na światło!

## Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia i określające środki ostrożności:

Składnik determinujący zagrożenie to formamid.



### Niebezpieczeństwo

H351	Podejrzewa się, że powoduje raka.
H360FD	Może działać szkodliwie na płodność. Może działać szkodliwie na dziecko w tonie matki.
H373	Może powodować uszkodzenie narządów poprzez długotrwałe lub powtarzane narażenie.
P201	Przed użyciem zapoznać się ze specjalnymi środkami ostrożności.
P202	Nie używać przed zapoznaniem się i zrozumieniem wszystkich środków bezpieczeństwa.
P260	Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.
P280	Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
P308+P313	W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P405	Przechowywać pod zamknięciem.

## 8. Ograniczenia

- Do zastosowań w diagnostyce *in vitro*.
- Tylko do użytku profesjonalnego.
- Interpretacja kliniczna jakiegokolwiek pozytywnego zabarwienia lub jego braku musi być wykonana w kontekście historii klinicznej, morfologii, innych kryteriów histopatologicznych, a także innych badań diagnostycznych. Obowiązkiem wykwalifikowanego patologa jest zaznajomienie się z sondami FISH, odczynnikami, panelami diagnostycznymi i metodami stosowanymi do wytwarzania barwionego preparatu. Barwienie musi być wykonane w certyfikowanym,

licencjonowanym laboratorium pod nadzorem patologa, który jest odpowiedzialny za przeglądanie wybarwionych preparatów i zapewnienie odpowiedniej kontroli pozytywnej i negatywnej.

Wybarwienie preparatów, szczególnie intensywność sygnału i barwienie tła, zależy od obróbki i przetwarzania próbki przed barwieniem. Nieodpowiednie utrwalenie, zamrażanie, rozmrażanie, płukanie, suszenie, podgrzewanie, krojenie lub zanieczyszczenie innym preparatem lub płynami może być źródłem artefaktów lub fałszywych wyników. Niepójne wyniki mogą być wynikiem różnych odmian metod utrwalania i zatapiania, a także obecności nieprawidłowości w próbce.

- Sonda powinna być użyta do detekcji loci opisanej w części 4 „Dostarczone odczynniki”.
- Wydajność została zatwierdzona przy użyciu procedur opisanych w niniejszej instrukcji użytkowania. Modyfikacje tych procedur mogą zmienić wydajność i muszą zostać zatwierdzone przez użytkownika.

## 9. Substancje zakłócające

Czerwone krwinki krwi obecne w próbce mogą wykazywać autofluorescencję, która utrudnia rozpoznawanie sygnału.

Następujące utrwalacze są niekompatybilne z FISH:

- Utrwalacz Bouin'a
- Utrwalacz B5
- Utrwalacze kwasne (np. kwas pikrynowy)
- Utrwalacz Zenker'a
- Alkohole (stosowane samodzielnie)
- Chlorek rtęci
- Utrwalacz formaldehyd/cynk
- Utrwalacz Hollande'a
- Niezbuforowana formalina

## 10. Przygotowanie próbek

### Preparaty cytologiczne

- Przygotuj próbki tak jak zostało to opisane w instrukcji użycia zestawu ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit.

### Preparaty FFPE

- Utrwalanie w 10% neutralnej buforowanej formalinie przez 24 h w temperaturze pokojowej (18-25°C).
- Rozmiar próbki ≤ 0.5 cm<sup>3</sup>.
- Stosuj parafinę jakości premium.
- Zatapianie powinno się odbywać w temperaturze poniżej 65°C.
- Przygotuj skrawki o grubości 2-4 μm.
- Stosuj szkiełka mikroskopowe pozytywnie naładowane.
- Utrwalaj przez 2-16 h w 50-60°C.

## 11. Obróbka wstępna produktu

Produkt jest gotowy do użycia. Nie jest wymagana rekonstrukcja, mieszanie lub rozcieńczanie. Przed użyciem przenieś sondę do temperatury pokojowej (18-25°C), chroniąc przed światłem. Przed otwarciem fiolki zamieszaj w wortexie i krótko odwiruj.

## 12. Procedura testu

### Preparaty cytologiczne

#### Obróbka wstępna próbki

Przygotuj obróbkę wstępną próbki zgodnie z instrukcją użycia zestawu ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit.

#### Denaturacja i hybrydyzacja

1. Nanieś pipetą 10 μl sondy na każdy przygotowany wstępnie preparat.
2. Nakryj preparat szkiełkiem nakrywkowym 22 mm x 22 mm (unikaj zamknięcia bąbli powietrza) i uszczelnij preparat.

*Rekomendujemy stosowanie rubber cement (np. Fixogum) do uszczelniania preparatów.*

3. Umieść szkiełka na płycie grzewczej lub hybrydyzatorze i denaturuj preparaty przez 5 min w 72°C.
4. Przenieś szkiełka do komory wilgotnościowej i hybryduj przez noc w temperaturze 37°C (np. w ciepłarni hybrydyzatora).

*Istotne jest, aby próbki nie wysychały podczas etapu hybrydyzacji.*

### Obróbka po hybrydyzacji

Przygotuj obróbkę po hybrydyzacji (płukanie, barwienie kontrastowe, mikroskop fluorescencyjny) zgodnie z instrukcją użycia zestawu ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit.

### Preparaty FFPE

#### Obróbka wstępna próbki

Przygotuj obróbkę wstępną próbki (odparafinowanie, proteolizę) zgodnie z instrukcją użycia zestawu ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit.

#### Denaturacja i hybrydyzacja

1. Nanieś pipetą 10  $\mu$ l sondy na każdą przygotowaną wstępnie preparat.
2. Nakryj preparat szkiełkiem nakrywkowym 22 mm x 22 mm (unikaj zamknięcia błędną powietrzem) i uszczelnij preparat.

*Rekomendujemy stosowanie rubber cement (np., Fixogum) do uszczelniania preparatów.*

3. Umieść szkiełka na płycie grzewczej lub hybrydyzatorze i denaturuj preparaty przez 10 min w 75°C.
4. Przenieś szkiełka do komory wilgotnościowej i hybryduj przez noc w temperaturze 37°C (np. w cieplarni hybrydyzatora).

*Istotne jest, aby próbki nie wysychały podczas etapu hybrydyzacji.*

### Obróbka po hybrydyzacji

Przygotuj przeprowadzenie obróbki po hybrydyzacji (płukanie, barwienie różnicujące, mikroskop fluorescencyjny) zgodnie z instrukcją użycia zestawu ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit.

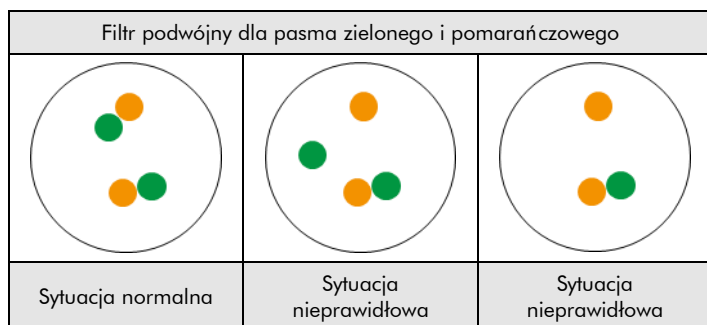
## 13. Interpretacja wyników

Przy użyciu odpowiednich zestawów filtrów, sygnały hybrydyzacji sondy są zielone (dystalnie do regionu punktu przerwania NTRK3) i pomarańczowe (proksymalnie do regionu punktu przerwania NTRK3)

**Sytuacja normalna:** W interfazach normalnych komórek lub komórek bez translokacji obejmującej locus NTRK3, pojawiają się dwa zielono-pomarańczowe sygnały fuzji (patrz Rys. 2).

**Sytuacja nieprawidłowa:** Jeden locus NTRK3 dotknięty translokacją jest wskazany przez jeden oddzielny zielony sygnał i jeden oddzielny pomarańczowy sygnał. Izolowane pomarańczowe sygnały są wynikiem delekcji dystalnie do regionu przerwania NTRK3 lub są spowodowane niezrównoważenymi translokacjami wpływającymi na ten region chromosomu (patrz Rys. 2).

*Nakładają się sygnały mogą być myślane jako z ótte sygnały.*



**Rys. 2: Oczekiwane wyniki w normalnych i nieprawidłowych jądrach komórkowych**

Genomowe aberracje spowodowane małymi delecjami, duplikacjami lub inwersjami, mogą skutkować niepozornymi wzorcami sygnałów.

Inny rozkład sygnału może być obserwowany w niektórych nieprawidłowych próbkach, co może skutkować innym wzorcem sygnału niż opisany powyżej, wskazując na wariantowe rearanżacje. Nieoczekiwane wzorce sygnału powinny zostać dalej zbadane.

#### Należy pamiętać:

- Z powodu zdekondensowanej chromatyny pojedyncze sygnały FISH mogą pojawić się jako małe skupienia sygnałów. Zatem, dwa lub trzy sygnały o tym samym rozmiarze, oddzielone odległością  $\leq 1$  średnicy sygnału, powinny być liczone, jako jeden sygnał.
- Nie należy oceniać jąder komórkowych zachodzących na siebie.
- Nie zliczać jąder komórkowych nadmiernie strawionych (rozpoznane jako ciemne obszary widoczne w jądrze komórkowym).

- Nie zliczać jąder komórkowych z silną autofluorescencją, co utrudnia rozpoznawanie sygnału.
- Negatywne lub nieoczekiwane wyniki mogą być wynikiem wielu czynników (patrz część 17).
- Aby poprawnie zinterpretować wyniki, użytkownik musi zatwierdzić ten produkt przed użyciem w procedurach diagnostycznych zgodnie z wytycznymi krajowymi i/lub międzynarodowymi.

## 14. Rekomendowane procedury kontroli jakości

W celu monitorowania prawidłowego przygotowania próbek i odczynników testowych do każdego testu należy dołączyć kontrole wewnętrzne i zewnętrzne. Jeśli wewnętrzne i/lub zewnętrzne kontrole nie wykazują odpowiedniego zabarwienia, wyniki z próbkami od pacjentów muszą być uznane za nieważne.

**Kontrola wewnętrzna:** Nienowotworowe komórki w obrębie próbki, które wykazują normalny wzorec sygnału.

**Kontrola zewnętrzna:** Walidowane preparaty z kontrolą dodatnią i ujemną.

## 15. Charakterystyka wydajności

### Preparaty cytologiczne

Wydajność została oceniona zgodnie z instrukcją użycia zestawu ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit.

**Dokładność:** Lokalizacja hybrydyzacji sondy oceniona na metafazowych wymazach kariotypów normalnych samców. We wszystkich badanych próbkach sonda hybrydyzowała wyłącznie z oczekiwanymi loci. Nie zaobserwowano dodatkowych sygnałów ani krzyżowych hybrydyzacji. Dlatego dokładność została obliczona na 100%.

**Czułość analityczna:** W celu oceny wrażliwości analitycznej sonda była oceniana na podstawie metafazowych wymazach kariotypów normalnych samców. Wszystkie jądra komórkowe wykazały oczekiwany prawidłowy wzorec sygnału we wszystkich badanych próbkach. Dlatego czułość analityczna została obliczona na 100%.

**Specyficzność i analityczna:** W celu oceny specyficzności i analitycznej sonda była oceniana na podstawie metafazowych wymazach kariotypów normalnych samców. We wszystkich badanych próbkach sonda hybrydyzowała wyłącznie z oczekiwanymi loci i z innymi innymi loci. Dlatego specyficzność i analityczna została obliczona na 100%.

### Preparaty FFPE

Wydajność została oceniona zgodnie z instrukcją użycia zestawu ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit.

**Dokładność:** Lokalizacja hybrydyzacji sondy oceniona na metafazowych wymazach kariotypów normalnych samców. We wszystkich badanych próbkach sonda hybrydyzowała wyłącznie z oczekiwanymi loci. Nie zaobserwowano dodatkowych sygnałów ani krzyżowych hybrydyzacji. Dlatego dokładność została obliczona na 100%.

**Czułość analityczna:** W celu oceny wrażliwości analitycznej sonda była oceniana na podstawie metafazowych wymazach kariotypów normalnych samców. Wszystkie jądra komórkowe wykazały oczekiwany prawidłowy wzorec sygnału we wszystkich badanych próbkach. Dlatego czułość analityczna została obliczona na 100%.

**Specyficzność i analityczna:** W celu oceny specyficzności i analitycznej sonda była oceniana na podstawie metafazowych wymazach kariotypów normalnych samców. We wszystkich badanych próbkach sonda hybrydyzowała wyłącznie z oczekiwanymi loci i z innymi innymi loci. Dlatego specyficzność i analityczna została obliczona na 100%.

## 16. Utylizacja

Utylizacja odczynników musi odbywać się zgodnie z lokalnymi przepisami.

## 17. Rozwiązywanie problemów

Każde odchylenie od instrukcji obsługi może prowadzić do gorszych wyników barwienia lub braku zabarwienia. Niektóre wskazówki zawarte w tej sekcji mają zastosowanie tylko w przypadku użycia zestawu ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit.

**Słabe sygnały lub brak sygnałów**

Możliwa przyczyna	Działanie
Niedostępna sekwencja docelowa	Zastosuj odpowiednią kontrolę docelową
Komórka lub tkanka nie została prawidłowo utrwalona	Zoptymalizuj czas utrwalania i utralacz lub zastosuj dodatkowy etap utrwalania jak to zostało opisane w "procedurze testu" w instrukcji użycia zestawu <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u>
Nieprawidłowa temperatura wstępnej obróbki cieplnej, proteolizy, denaturacji, hybrydyzacji, lub płukania	Sprawdź temperaturę wszystkich wykorzystywanych urządzeń technicznych za pomocą skalibrowanego termometru
Proteolityczna obróbka wstępna nie została przeprowadzona prawidłowo	Zoptymalizuj czas inkubacji pepsyny, wydłuż lub skróć jeśli to konieczne
Odparowanie sondy	Gdy użycie hybrydyzatora obowiązkowe jest stosowanie mokrych pasów / napełnionych wodą zbiorników. Gdy użycie ciepłarki wymagane jest użycie komory wilgotnościowej. W dodatku szkiełko nakrywkowe powinno być dokładnie uszczelnione, np. Fixogumem w celu zabezpieczenia przed wyschnięciem podczas hybrydyzacji
Zbyt niskie stężenie buforu płuczącego	Sprawdź stężenie buforu płuczącego
Stare roztwory do odwadniania	Przygotuj świeże roztwory do odwadniania
Nieprawidłowo ustawiony mikroskop fluorescencyjny	Dostosuj poprawnie
Stosowanie nieodpowiednich zestawów filtrów	Stosuj zestawy filtrów odpowiednich do fluorochromów sondy. <i>Filtry z potrójnym pasmem zapewniają mniej światła w porównaniu z zestawami filtrów jedno lub dwupasmowymi.</i> <i>W konsekwencji sygnały mogą wydawać się słabsze przy użyciu tych zestawów filtrów z potrójnym pasmem.</i>
Obraz sondy/fluorochromu nieprawidłowy	Wykonaj etapy hybrydyzacji i płukania w ciemności

**Sygnały krzyżowe hybrydyzacji; wysokie tło**

Możliwa przyczyna	Działanie
Niekompletne odparafinowanie	Użyj świeżych odczynników; sprawdź czas usuwania parafiny
Zbyt silna proteolityczna obróbka wstępna	Zredukuj czas inkubacji z pepsyną
Zbyt duża objętość sondy w obszarze	Zredukuj objętość sondy na materiale/obszarze, rozprowadź sondę kroplami w celu uniknięcia lokalnej koncentracji
Szkiełko schłodzone do temperatury pokojowej przed hybrydyzacją	Przenieś szybko szkiełko do temperatury 37°C
Zbyt wysokie stężenie buforu płuczącego	Sprawdź stężenie buforu płuczącego
Zbyt niska temperatura płukania po hybrydyzacji	Sprawdź temperaturę; podnieś ją jeśli to konieczne

Odwodnienie próbek pomiędzy poszczególnymi etapami inkubacji	Zapobiegaj odwodnieniu próbek przez uszczelnienie szkiełek i przeprowadzanie inkubacji w wilgotnym środowisku
--	---

**Zdegradowana morfologia**

Możliwa przyczyna	Działanie
Komórka lub tkanka nie zostały utrwalone prawidłowo	Zoptymalizuj czas utrwalania i utralacz lub zastosuj dodatkowy etap utrwalania jak to zostało opisane w "procedurze testu" w instrukcji użycia zestawu <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u>
Proteolityczna obróbka wstępna nie została przeprowadzona prawidłowo	Zoptymalizuj czas inkubacji pepsyny, wydłuż lub skróć jeśli to konieczne
Niewystarczające wysuszenie przed aplikacją sondy	Wydłuż suszenie

**Zachodzące na siebie jądra komórkowe**

Możliwa przyczyna	Działanie
Niewłaściwa grubość skrawków tkanek	Przygotuj skrawki o grubości 2-4 μm

**Preparat spłynął ze szkiełka**

Możliwa przyczyna	Działanie
Szkiełko z nieodpowiednią powłoką	Zastosuj odpowiednie szkiełko
Zbyt silna proteolityczna obróbka wstępna	Zredukuj czas inkubacji z pepsyną

**Słabe barwienie kontrastowe**

Możliwa przyczyna	Działanie
Niskie stężenie roztworu DAPI	Zamiast tego użyj <u>DAPI/DuraTect-Solution (ultra)</u> (Nr. kat. MT-0008-0.8)
Zbyt krótki czas inkubacji z DAPI	Dostosuj czas inkubacji z DAPI

## 18. Literatura

- 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.
- Wang L, et al. (2017) *J Mol Diagn* 19: 387-96.
- Wu G, et al. (2014) *Nat Genet* 46: 444-50

Nasi eksperci są gotowi odpowiedzieć na Państwa pytania.  
Prosimy o kontakt [help@zytovision.com](mailto:help@zytovision.com)



ZytoVision GmbH  
Fischkai 1  
27572 Bremerhaven/ Germany  
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)

### Znaki towarowe:

ZytoVision® i ZytoLight® to znaki towarowe ZytoVision GmbH.