



ZytoLight

## SPEC IGK Dual Color Break Apart Probe

REF Z-2288-50

Σ 5 (0.05 ml)

Do jakościowej detekcji translokacji obejmującej ludzki gen IGK w 2p11.2 metodą fluorescencyjnej hybrydacji *in situ* (FISH)



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

### 1. Przeznaczenie

ZytoLight SPEC IGK Dual Color Break Apart Probe (PL243) jest przeznaczony do jakościowej detekcji translokacji obejmującej ludzki locus IGK (immunoglobulin kappa locus, a.k.a. IGK@, IGk) w 2p11.2 w próbkach cytologicznych utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie takich jak tkanka chłoniaka metodą fluorescencyjnej hybrydacji *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

Translokacje obejmujące geny immunoglobulin (IG) są powtarzającymi się zdarzeniami onkogenezy komórek B. We wszystkich tych translokacjach onkogen jest aktywowany i nadekspresjonowany przez zestawienie tego onkogenu z sekwencjami regulatorowymi IG. Chłoniak Burkitta (BL) charakteryzuje się wzajemnymi translokacjami obejmującymi gen MYC i jedno z loci IG. Większość translokacji obejmuje locus łańcucha ciężkiego immunoglobuliny (IGH), podczas gdy niewielka część obejmuje loci łańcucha lekkiego immunoglobuliny, albo łańcuch lekki kappa (IGK), albo łańcuch lekki lambda (IGL). Rearanżacje IGK i IGL wynikające z translokacji wariantowych t(2;8)(p11.2;q24.21) i t(8;22)(q24.21;q11.2), odpowiednio, wykryto do 25% przypadki BL. W chłoniaku niezręcznym (NHL) z rearanżacjami IG-MYC partnerem translokacji MYC jest IGK i IGL odpowiednio w 8% i 22% przypadków. Translokacje IG opisywano w kilku nowotworach z linii komórek B innych niż BL, w tym w nietypowym chłoniaku Burkitta/Burkitta podobnym, rozlanym chłoniaku z dużych komórek B, chłoniaku grudkowym, chłoniaku z komórek płaszczka i szpiczaku mnogim. Inne zdarzenia rearanżacji obejmują gen IGK i IGL z onkogenami BCL2 i BCL6 jako partnerami translokacji. Wykrywanie udziału IGK i IGL w chłoniakach metodą fluorescencyjnej hybrydacji *in situ* (FISH) może okazać się cennym narzędziem diagnostycznym i prognostycznym.

### 3. Zasada testu

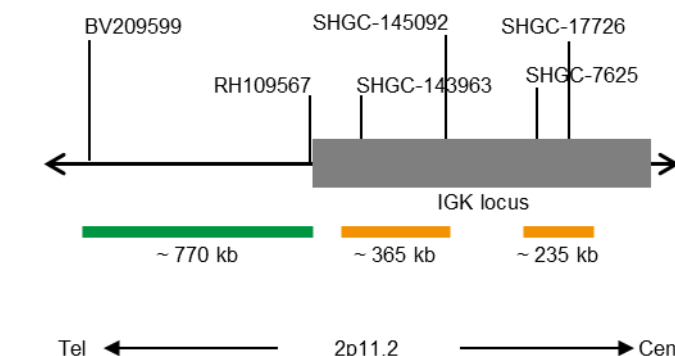
Technika fluorescencyjnej hybrydacji *in situ* (FISH) umożliwia wykrywanie i wizualizację określonych sekwencji kwasów nukleinowych w preparatach komórkowych. Fluorescencyjnie oznakowane fragmenty DNA, nazwane sondami, i ich komplementarne docelowe nici DNA w preparatach są wspólnie denaturowane, a następnie łączą się podczas hybrydacji. Niespecyficzne i niezwiązane fragmenty sondy są usuwane przez stopniowe przemywanie. Po barwieniu kontrastowym DNA za pomocą DAPI, zhybrydowane 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 IGK Dual Color Break Apart Probe składa się z:

- ZyGreen (wzbudzenie 503 nm/emisja 528 nm) wyznakowane polinukleotydy (~10.0 ng/μl), których docelowe sekwencje są zmapowane w 2p11.2\* (chr2:88,382,616-89,153,517) dystalnie do regionu punktu przerwania IGK (patrz Rys. 1).
- ZyOrange (wzbudzenie 547 nm/emisja 572 nm) wyznakowane polinukleotydy (~4.5 ng/μl), których docelowe sekwencje są zmapowane w 2p11.2\* (chr2:89,246,977-89,609,390 i chr2:89,853,315-90,089,156) proksymalnie do regionu punktu przerwania IGK (patrz Rys. 1). Ze względu na segmenty sekwencji homologicznych proksymalnie do regionu punktu przerwania IGK, pomarańczowa sonda ma dwa regiony hybrydacji w bliskim sąsiedztwie.
- Bufor do hybrydacji oparty na formamidzie

\* zgodnie z Human Genome Assembly GRCh37/hg19



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

ZytoLight SPEC IGK Dual Color Break Apart Probe jest dostępny w jednym rozmiarze:

- Z-2288-50: 0.05 ml (5 reakcji po 10 μl każda)

### 5. Materiały wymagane, ale nie dostarczane

- Pozytywny i negatywny preparat kontrolny
- Hybrydator lub płyta grzewcza
- Hybrydator lub komora wilgotnościowa w cieplarni do hybrydacji
- Timer
- Barwiacze
- Skalibrowany termometr
- Regulowane pipety (10 μl, 25 μl)
- 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. Unikać 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 łonie 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. Niespójne 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 kwaśne (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 folki zamieszaj w worku 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  $\mu$ l 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 cieplarni hybrydyzatora).

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

#### Obróbka po hybrydyzacji

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

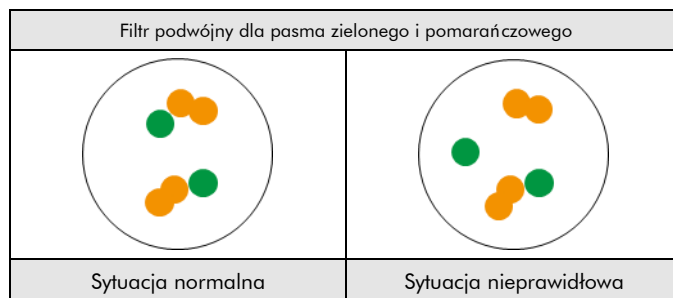
## 13. Interpretacja wyników

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

**Sytuacja normalna:** W interfazach normalnych komórek lub komórek bez translokacji obejmującej locus IGK, pojawiają się dwa zielono-pomarańczowe sygnały fuzji. Z powodu dwóch regionów hybrydyzacji pomarańczowej sondy, pomarańczowe sygnały mogą pojawiać się jako sparowane kropki sygnału (patrz Rys. 2).

**Sytuacja nieprawidłowa:** Jeden locus IGK dotknięty translokacją jest wskazany przez jeden oddzielny zielony sygnał i jeden oddzielny pomarańczowy sygnał. Z powodu dwóch regionów hybrydyzacji pomarańczowej sondy, pomarańczowe sygnały mogą pojawiać się jako sparowane kropki sygnału (patrz Rys. 2).

*Nakładając ce się sygnały mogą być wyświetlane 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 zdecondensowanej chromatyny pojedyncze sygnały FISH mogą pojawić się jako małe skupienia sygnałów. Zatem, dwa lub trzy sygnały o tym samym rozmiarze, oddzielone odległością  $\leq 1$   $\mu$ m odrednicy 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 analityczna:** W celu oceny specyficzności analitycznej sonda była oceniana na podstawie metafazowych wymazach kariotypów normalnych samców. We wszystkich badanych próbkach sonda hybrydyzowała wyłącznie z oczekiwanymi loci i żadnymi innymi loci. Dlatego specyficzność 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 żadnymi 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
Komórka lub tkanka nie została prawidłowo utrwalona	Zoptymalizuj czas utrwalania i utrwalcz lub zastosuj dodatkowy etap utrwalania jak to zostało opisane w "procedurze testu" w instrukcji użycia zestawu <i>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</i>
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 używasz hybrydyzatora obowiązkowe jest stosowanie mokrych pasów / napełnionych wodą zbiorników. Gdy używasz 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 płukającego	Sprawdź stężenie buforu płukającego
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. 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 więcej 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 płukającego	Sprawdź stężenie buforu płukającego
Zbyt niska temperatura płukania po hybrydyzacji	Sprawdź temperaturę; podniej 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 utrwalcz lub zastosuj dodatkowy etap utrwalania jak to zostało opisane w "procedurze testu" w instrukcji użycia zestawu <i>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</i>
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**

- Cario G, et al. (2000) *Br J Haematol* 110: 537-46.
- Einerson EE, et al. (2006) *Leukemia* 20: 1790-9.
- Henglein B, et al. (1989) *Mol Cell Biol* 9: 2105-13.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Martín-Subero JI, et al. (2002) *Int J Cancer* 98: 470-4.
- Poulsen TS, et al. (2002) *Leukemia* 16: 2148-55.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, *Oxford University Press* (1992) ISBN 0 19 963327 4.

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