



## ZytoDot 2C SPEC IGH Break Apart Probe

REF C-3071-100

Σ 10 (0.1 ml)

Kromojenik *in situ* hibridizasyon (CISH) ile 14q32.33'teki insan IGH lokusunu içeren translokasyonların kalitatif tespiti için



Vücut dışında kullanılan (*in vitro*) tıbbi tanı cihazı  
98/79/EC AB Yönetmeliğine göre

### 1. Kullanım amacı

**ZytoDot 2C SPEC IGH Break Apart Probe (PD51)** formalin-fikse, parafine gömülü örneklerde 14q32.33'deki insan IGH lokusunu içeren translokasyonların kromojenik *in situ* hibridizasyon (CISH) ile kalitatif tespitinde kullanılmak içindir. Bu prob **ZytoDot 2C CISH Implementation Kit** (Ürün No. C-3044-10/-40) ile birlikte kullanılmak içindir.

Sonuçların yorumlanması hastanın diğer klinik ve patolojik verileri dikkate alınarak hastanın klinik geçmişi kapsamında yetkin bir patoloj tarafından yapılmalıdır.

### 2. Klinik bağlantısı

IGH (immünooglobulin ağır zincir; IGH@ olarak da bilinir) lokusunu içeren yeniden düzenlenmelerin non-Hodgkin lenfomanın sitogenetik belirteci olduğu kabul edilir. NHL'ler tüm hematolojik malinlerin %50'sini temsil eder. IGH lokusu yeniden düzenlenmeleri NHL'lerin yaklaşık %50'sinde tanımlanmıştır ve NHL'lerin spesifik alt tipleri ile ilişkilidirler. t(11;14)(q13.3;q32.3) translokasyonu mantle hücreli lenfomanın (MCL) yaklaşık %95'inde, t(14;18)(q32.3;q21.3) foliküler lenfomanın (FL) %80'inde, t(3;14)(q27;q32.3) difüz büyük B-hücreli lenfomada (DLBCL) ve t(8;14)(q24.21;q32.3) Burkitt's lenfomada bulunur. Bu translokasyonların tümünde translokasyon partnerinin kırılma noktası yakınında yer alan bir onkogen IGH düzenleyici dizilerin yanına geçerek aktive edilir. 14q32.33'ü içeren yeniden düzenlenmeler kendilerine has biyolojik özelliklere sahiptir ve klinik, morfolojik ve immünofenotipik özellikler ile uyumludur. CISH tanıda, tedavi seçiminde ve prognostik bilgi sağlamada faydalı bir araçtır.

### 3. Test prensibi

Kromojenik *in situ* hibridizasyon (CISH) tekniği hücre preparatlarında spesifik nükleik asit dizilerinin tespit edilmesine ve görüntülenmesine imkan verir. CISH problemleri denen hapten-ışaretili nükleotid fragmentleri ve preparatlardaki komplementer hedef dizileri birlikte denatüre edilirler ve sonra hibridizasyon ile birbirine kaynakmaları sağlanır. Daha sonra, spesifik olmayan ve bağlanma yapmamış prob fragmentleri güçlü yıkama adımları ile ortamdan uzaklaştırılır. Işaretili probun dupleks oluşumu sekonder polimerize enzim-konjuge antikorlar tarafından tespit edilen primer (ışaretsiz) antikorlar kullanılarak görüntülenebilir. Kromojenik

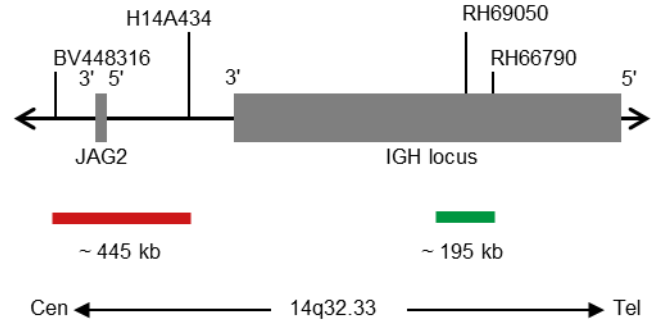
substratlar ile meydana gelen enzimatik reaksiyon renkli çöktürlerin oluşmasına yol açar. Hibridize olmuş problemler hücre çekirdeğinin bir çekirdek boyası ile zıt boyanmasından sonra ışık mikroskopunda görüntülenebilir.

### 4. Sağlanan reaktifler

**ZytoDot 2C SPEC IGH Break Apart Probe** şunları içerir:

- Digoksigenin-ışaretili polinükleotidler (~0,50 ng/μl), in 14q32.33\* (chr14:106,690,778-106,883,535) konumunda bulunan, IGH kırılma noktası bölgesinin distalindeki dizileri hedef alır (bkz. Şekil 1).
- Dinitrofenil-ışaretili polinükleotidler (~0,75 ng/μl), 14q32.33\* (chr14:105,462,169-105,909,611) konumunda bulunan, IGH kırılma noktası bölgesinin proksimalindeki dizileri hedef alır (bkz. Şekil 1).
- Formamid tabanlı hibridizasyon tamponu

\*Human Genome Assembly GRCh37/hg19'a göre



Şekil 1: SPEC IGH Prob yapısı (ölçekli değildir)

**ZytoDot 2C SPEC IGH Break Apart Probe** tek şekilde temin edilir:

- C-3071-100: 0.1 ml (10 reaksiyon, her biri 10 μl)

### 5. Gerekli diğer malzemeler

- ZytoDot 2C CISH Implementation Kit** (Ürün No. C-3044-10/-40)
- Pozitif ve negatif kontrol örnekleri
- Mikroskop lamaları, pozitif yüklü
- Su banyosu (80°C, 98°C)
- Hibridizasyon cihazı veya sıcak levha
- Hibridizasyon cihazı veya hibridizasyon etüvünde nemli kutu
- Ayarlanabilir pipetler (10 μl, 1000 μl)
- Boyama kapları veya banyoları
- Zaman Sayacı
- Kalibre edilmiş termometre
- Etanol veya reaktif dereceli alkol
- Ksilen
- Metanol %100
- Hidrojen Peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) %30
- Deiyonize veya distile su
- Lamel (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Lastik yalıtım solüsyonu, örn., **Fixogum Rubber Cement** (Ürün No. E-4005-50/-125) veya benzeri
- Uygun donanımlı ışık mikroskobu (400-630x)

### 6. Saklama ve kullanma koşulları

2-8°C'de dik olarak saklayın. Kullandıktan sonra hemen saklama koşullarına ulaştırın. Reaktifleri etiketleri üzerinde belirtilen son kullanma tarihlerinden sonra kullanmayın. Ürün, uygun şekilde kullanıldığında ve saklandığında etiketi üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

### 7. Uyarılar ve önlemler

- Kullanmadan önce kullanma kılavuzunu okuyun!
- Son kullanma tarihi gelen ürünleri kullanmayın!
- Bu ürün sağlığa zararlı ve potansiyel olarak enfeksiyöz maddeler içerir (düşük konsantrasyonlarda ve hacimlerde). Reaktiflere

doğrudan temas etmekten sakının. Uygun önlemleri alın (tek kullanımlık eldiven, koruyucu gözlük ve laboratuvar giysileri giyin)!

- Ürün ile ilgili meydana gelen herhangi bir ciddi kazayı üreticisine ve yerel düzenlemelere uygun olarak yetkililere bildirin!
- Reaktifler cilt ile temas ederse cildi derhal bol miktarda su ile yıkayın!
- Web sitemizde ([www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)) bir güvenlik bilgi formu bulunmaktadır!
- Aksi açıkça belirtilmemişse reaktifleri tekrar kullanmayın!
- Örnekler arasında çapraz kontaminasyon olmasından ve mikrobakteriyel kontaminasyon olmasından sakının!
- Hibridizasyon ve yıkama aşamaları sırasında örneklerin kurumasına izin verilmemelidir!

#### Zararlılık ve önlem ifadeleri:

Zararlılık belirleyici bileşen Formamid'tir.



#### Tehlike

H351	Kansere yol açma şüphesi var.
H360FD	Üremeye zarar verebilir. Doğmamış çocukta hasara yol açabilir.
H373	Uzun süreli veya tekrarlı maruz kalma sonucu organlarda hasara yol açabilir.
P201	Kullanmadan önce özel talimatları okuyun.
P202	Bütün önlem ifadeleri okunup anlaşılmadan elleçlemeyin.
P260	Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumayın.
P280	Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.
P308+P313	Maruz kalınma veya etkileşme halinde İSE: Tıbbi yardım/bakım alın.
P405	Kilit altında saklayın.

#### 8. Sınırlamalar

- Yalnızca vücut dışı (*in vitro*) tıbbi tanı amaçlı kullanım içindir.
- Yalnızca profesyonel kullanım içindir.
- Yalnızca otomatik olmayan çalışmalarda kullanım içindir.
- Herhangi bir pozitif boyanmanın veya boyanma olmamasının klinik yorumlaması başka tanı testleri ile birlikte klinik geçmiş, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler kapsamında yapılmalıdır. Preparatın boyanmasında kullanılan CISH problemleri, reaktifler, tanı panelleri ve yöntemleri hakkında bilgi sahibi olmak yetkin bir patoloğun sorumluluğudur. Boyama işlemi onaylı ve lisanslı bir laboratuvarında, boyanmış lamaların incelenmesinden sorumlu olan ve pozitif ve negatif kontrollerin yeterliliğini garanti eden bir patoloğun gözetiminde yapılmalıdır.
- Örneğin boyanması, özellikle de sinyalin yoğunluğu ve zemin boyanması, örneğin boyamadan önce geçtiği işlem ve hazırlık süreçlerine bağlıdır. Kötü fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer örneklerle ya da sıvılarla kontamine etme artefaktlara veya yanlış sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki değişikliklerden ve de örneğin kendi içinde olan düzensizliklerden meydana gelebilir.
- Prob yalnızca 4. "Sağlanan reaktifler" bölümünde tanımlanan lokusların tespit edilmesi için kullanılmalıdır.
- Ürünün performansı bu kullanma kılavuzunda tanımlanan prosedürler kullanılarak doğrulanmıştır. Bu prosedürlerde yapılan değişiklikler performansı değiştirebilir ve doğrulaması kullanıcı tarafından yapılmalıdır.

#### 9. Etkileşimli maddeler

Aşağıdaki fiksatifler ISH ile uyumlu değildir:

- Bouin's fiksatifi
- B5 fiksatifi

- Asidik fiksatifler (örn., pikrik asit)
- Zenker's fiksatifi
- Alkoller (tek başına kullanıldığında)
- Civa klorür
- Formaldehit/çinko fiksatifi
- Hollande's fiksatifi
- Tamponsuz formalin

#### 10. Örneklerin hazırlanması

Öneriler:

- Herhangi bir hazırlık adımında örnekler arasında çapraz kontaminasyon olmasından sakının çünkü bu durum hatalı sonuçlara yol açabilir.
- Oda sıcaklığında (18-25°C) 24 saat %10 nötral tamponlu formalin ile fiksasyon.
- Örnek büyüklüğü  $\leq 0.5 \text{ cm}^3$ .
- En üst kalitede parafin kullanın.
- Gömme işlemi 65°C'den daha düşük sıcaklıklarda yapılmalıdır.
- Mikrotom ile 3-5  $\mu\text{m}$  kalınlığında kesitler alın.
- Pozitif yüklü mikroskop lamaları kullanın.
- 50-60°C'de 2-16 saat fikse edin.

#### 11. Ürünün kullanıma hazırlanması

Ürün kullanıma hazırdır. Yeniden sulandırmaya, karıştırmaya veya dilüsyon yapmaya gerek yoktur. Kullanmadan önce probun oda sıcaklığına (18-25°C) ulaşmasına izin verin ve hafifçe karıştırın.

#### 12. Çalışma prosedürü

##### Örneğin ön işlemi

Örneğin ön işlemini (parafin giderme, proteoliz) [ZytoDot 2C CISH Implementation Kit](#) kullanma kılavuzuna göre yapın.

##### Denatürasyon ve hibridizasyon

1. Ön işlemi yapılmış her bir örneğin üzerine 10  $\mu\text{l}$  prob pipetleyin.
  2. Örnekleri 22 mm x 22 mm boyutlarında bir lamel ile kapatın (hava kabarcığı bırakmadan) ve lamelin yalıtımını sağlayın.
- Yalıtım için lastik solüsyonu (örn., Fixogum) kullanılmasını öneririz.*
3. Lamaları bir sıcak levha üzerine ya da bir hibridizasyon cihazına yerleştirin ve örnekleri 79°C'de 5 dakika denatüre edin.
  4. Lamaları bir nemli kutuya aktarın ve 37°C'de (örn. bir hibridizasyon etüvünde) gece boyu hibridize edin.

*Hibridizasyon aşamasında örneklerin kurumaması gerekir.*

##### Hibridizasyon sonrası

Hibridizasyon sonrası işlemleri (yıkama, deteksiyon, zıt boyama, kapama, mikroskop incelemesi) [ZytoDot 2C CISH Implementation Kit](#) kullanma kılavuzuna göre yapın.

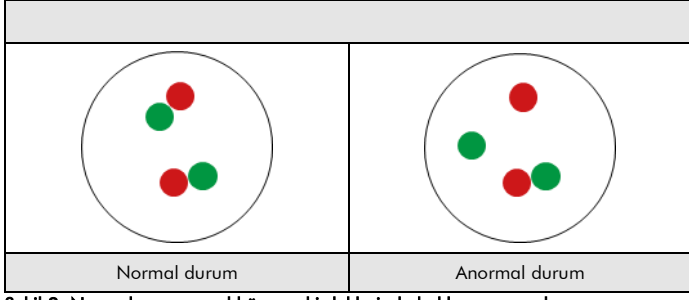
#### 13. Sonuçların yorumlanması

[ZytoDot 2C CISH Implementation Kit](#) kullanıldığında Digoksinin-işaretili polinükleotidlerin hibridizasyon sinyalleri koyu yeşil renkli belirgin noktalar (IGH kırılma noktası bölgesinin distali), Dinotrofenil-işaretili polinükleotidlerin hibridizasyon sinyalleri parlak kırmızı renkli belirgin noktalar (IGH kırılma noktası bölgesinin proksimali) şeklinde gözlenir.

**Normal durum:** Normal hücrelerin veya IGH lokusunu içeren bir translokasyonu olmayan hücrelerin interfazlarında iki kırmızı/yeşil birleşik sinyal görülür (bkzn. Şekil 2).

**Anormal durum:** Bir translokasyondan etkilenmiş bir IGH lokusu ayrı bir yeşil sinyal ve ayrı bir kırmızı sinyal ile belli olur (bkzn. Şekil 2).

*Üst üste gelen sinyaller kahverengi gözükebilir.*



Şekil 2: Normal ve anormal hücre çekirdeklerinde beklenen sonuçlar

Küçük delesyonlar, duplikasyonlar veya inversiyonlardan kaynaklanan genomik anormallikler sonucunda dikkat çekmeyen sinyal modelleri meydana gelebilir.

Bazı anormal örneklerde yukarıda belirtilenden farklı sinyal modelleri gözlemlenebilir. Bu beklenmeyen sinyal modelleri daha fazla araştırılmalıdır.

#### Lütfen dikkat edin:

- Kromatinin yoğunluğunu kaybetmesinden dolayı tek CISH sinyalleri küçük kümeler gibi görülebilir. Bu yüzden, aralarında 1 sinyal çapından daha düşük veya ona eşit mesafe bulunan aynı büyüklükteki iki veya üç sinyal tek sinyal sayılmalıdır.
- Sinyal sayımından önce, herhangi bir olası intratümöral heterojenlik bakımından örnek 100 ila 200 büyütmede taranmalıdır.
- Sinyallerin görüntülenmesi en az 400 büyütmede yapılmalıdır, böylece sinyaller daha kolay görüntülenebilir. Kromozom kırılmalarını tespit eden problemler için 630 büyütme önerilir. Kontrast yükseltici filtreler kullanmayın çünkü sinyal renginde bozulma olabilir. Parlak renkli sinyaller elde etmek için apertür diyaframını açın. Bir hücre çekirdeğini değerlendirirken mutlaka odağı yukarıya ve aşağıya doğru değiştirin çünkü kırmızı ve yeşil sinyaller birbirinin üzerinde bulunabilir.
- Nekroz, üst üste gelmiş hücre çekirdekleri, aşırı sindirilmiş hücre çekirdekleri ve sinyal yoğunluğu zayıf olan hücre çekirdekleri bulunan bölgeleri değerlendirmeyin.
- Neoplastik olmayan hücrelerin küçük bir yüzdesinde bile mitoz nedeniyle ilave sinyaller görülebilir. Parafine gömülü örneklerde kesit artefaktları nedeniyle zaman zaman sinyal vermeyen hücre çekirdekleri gözlemlenebilir.
- Negatif veya spesifik olmayan bir sonuç çok sayıda etken sebebiyle meydana gelebilir (17. Bölüme bakınız).
- Sonuçları doğru yorumlamak için kullanıcı bu ürünü tanı prosedürlerinde kullanmadan önce ulusal ve/veya uluslararası yönergelere göre doğrulanmalıdır.

#### 14. Önerilen kalite kontrol prosedürleri

İşlenen örneklerin ve test reaktiflerinin doğru performans gösterdiklerini izlemek için her deneye iç ve dış kontroller dahil edilmelidir. İç ve/veya dış kontroller uygun boyanma göstermezse hasta örnekleri ile alınan sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

**İç kontrol:** Örnek içindeki normal sinyal modeli gösteren neoplastik olmayan hücreler, örn., fibroblastlar.

**Dış kontrol:** Doğrulanmış pozitif ve negatif kontrol örnekleri.

#### 15. Performans özellikleri

Proben performansı dengi olan IVD onaylı FISH probu ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Uyum %100'dür.

**Doğruluk:** Doğruluk %100 olarak hesaplanmıştır.

**Analitik duyarlılık:** Analitik duyarlılık %100 olarak hesaplanmıştır.

**Analitik özgüllük:** Analitik özgüllük %100 olarak hesaplanmıştır.

#### 16. Atık bertarafı

Reaktiflerin bertarafı yerel düzenlemelere uygun olarak yapılmalıdır.

#### 17. Sorun giderme

Çalışma talimatlarına uyulmaması hatalı sonuçların alınmasına veya sonuç alınmamasına sebep olabilir.

#### Zayıf sinyaller veya hiç sinyal bulunmaması

Olası sebep	Önlem
Hücre veya doku örneği doğru fikse olmamış	Fiksasyon süresini ve fiksatifi optimize edin
Isı ön işlemi, proteoliz, hibridizasyon, denatürasyon, güçlü yıkama veya antikör inkübasyonu sıcaklığı doğru değil	Kullanılan tüm teknik araçların sıcaklığını kalibre edilmiş bir termometre ile kontrol edin. Sıcaklığı kritik olan solüsyonlarda her zaman aynı sayıda lam kullanın.
Proteolitik ön işlem doğru yapılmamış	Fiksasyonun yapısı ve süresi, kesitlerin kalınlığı ve dokunun/hücrelerin yapısı gibi çok sayıda faktöre bağlı olarak farklı inkübasyon süreleri gerekebilir. Ön denemeler yaparak pepsin inkübasyonu için optimum süreyi belirleyin.
Hibridizasyon süresi çok kısa	Hibridizasyonu en az 12 saat yapın; gerekirse hibridizasyon süresini uzatın.
Dehidrasyon solüsyonları eski	Taze dehidrasyon solüsyonları hazırlayın.
Prob buharlaşması	Bir hibridizasyon cihazı kullanırken ıslak şeritlerin / su dolu haznelerin kullanılması zorunludur. Bir hibridizasyon etüvü kullanırken bir nemli kutunun kullanılması gerekir. Ayrıca, hibridizasyon sırasında örneğin kurummasını önlemek için lamel iyice yalıtılmalıdır (örn. Fixogum ile)
Kromojenik substrat inkübasyon süresi çok kısa	İnkübasyon süresini uzatın
Zıt boyama süresi çok uzun	Zıt boyama süresi örneğin yapısına bağlıdır ve buna göre optimize edilmelidir. Koyu zıt boyanma olmasından kaçının çünkü pozitif boyanma sinyallerini engelleyebilir.
Zıt boyamada mavileştirme düzgün yapılmamış	Mavileştirme için soğuk akan çeşme suyu kullanın; ılık veya sıcak su ya da mavileştirme reaktifleri kullanmayın

#### Sinyaller çok kuvvetli

Olası sebep	Önlem
Yapılan proteoliz ön işlemi çok uzun	Fiksasyonun yapısı ve süresi, kesitlerin kalınlığı ve dokunun/hücrelerin yapısı gibi çok sayıda faktöre bağlı olarak farklı inkübasyon süreleri gerekebilir. Ön denemeler yaparak pepsin inkübasyonu için optimum süreyi belirleyin.
AP-Red Solution inkübasyon süresi doğru değil	Gerekirse inkübasyon süresi 5 dakikaya düşürülebilir. Substrat solüsyonunu 25°C'nin üzerine ısıtmayın; yalnızca oda sıcaklığında inkübe edin.
HRP-Green Solution inkübasyon süresi doğru değil	Gerekirse inkübasyon süresi 7 dakikaya düşürülebilir. Substrat solüsyonunu 25°C'nin üzerine ısıtmayın; yalnızca oda sıcaklığında inkübe edin.

#### Kırmızı sinyaller çok zayıf

Olası sebep	Önlem
AP-Red Solution güçlü direkt ışığa maruz kalmış	AP-Red Solution'ı güçlü direkt ışıktan korunaklı bir şekilde hazırlayın ve kullanın
AP-Red Solution çok erken hazırlanmış	Kullanmadan hemen önce hazırlayın
AP-Red Solution inkübasyon süresi doğru değil	Gerekirse inkübasyon süresi 15 dakikaya kadar uzatılabilir

Kromojenik substratın hazırlanması yeterli değil	Solution A hacmini artırmayın.
--------------------------------------------------	--------------------------------

**Yeşil sinyaller çok zayıf**

Olası sebep	Önlem
HRP-Green ile boyamadan sonraki herhangi bir yıkama adımının inkübasyon süresi çok uzun	Belirtilen inkübasyon sürelerini aşmayın
HRP-Green Solution inkübasyon süresi doğru değil	Gerekirse inkübasyon süresi 15 dakikaya kadar uzatılabilir
Kromojenik substratın hazırlanması yeterli değil	Solution A hacmini artırmayın.

**Sinyaller soluk veya birbirine girmiş**

Olası sebep	Önlem
Uygun olmayan kapama çözümü kullanılmış	Yalnızca kit ile birlikte verilen kapama maddesini veya yabancı madde içermeyen ksilen bazlı kapama çözümü kullanın; kapama bandı kullanmayın
Kesitlerin dehidrasyonu düzgün olmamış	Taze etanol ve ksilen solüsyonları kullanın; yalnızca "saf" kalitede ksilen kullanın.

**Düzensiz veya yalnızca bazı kısımlarda çok hafif boyanma**

Olası sebep	Önlem
Parafin giderme tamamlanmamış	Taze solüsyonlar kullanın; parafin giderme işleminin süresini kontrol edin
Reaktif hacmi çok düşük	Reaktif hacminin doku alanını kaplamaya yetecek miktarda olmasını sağlayın
Hibridizasyon öncesinde veya kapama sırasında hava kabarcıkları kalmış	Hava kabarcığı bırakmayın

**Tutarsız sonuçlar**

Olası sebep	Önlem
Proben uygulanmasından önce yeterli kurutma yapılmamış	Havada kuruma süresini uzatın
Pepsinin, antikorların ve/veya renk substratlarının uygulanmasından önce doku üzerinde çok fazla su/yıkama tamponu kalmış	Doku kesiti üzerindeki fazla sıvının emdirilerek veya lamı sallayarak giderilmesini sağlayın. Küçük miktardaki su/yıkama tamponu kalıntısı teste etki etmez
Dokunun fiksasyon ve gömme yöntemlerinde değişiklikler var	Fiksasyon ve gömme yöntemlerini optimize edin
Doku kesiti kalınlığında değişiklikler var	Kesit almayı optimize edin

**Doku morfolojisi bozulmuş**

Olası sebep	Önlem
Hücre veya doku örneği doğru fikse olmamış	Fiksasyon süresini ve fiksatifini optimize edin
Proteolitik ön işlem doğru yapılmamış	Pepsin inkübasyon süresini optimize edin; gerekirse artırın veya düşürün.

**Çapraz hibridizasyon sinyalleri, kötü zemin**

Olası sebep	Önlem
-------------	-------

Güçlü yıkama sıcaklığı doğru değil	Kullanılan tüm teknik araçların sıcaklığını kalibre edilmiş bir termometre ile kontrol edin. Sıcaklığı kritik olan solüsyonlarda her zaman aynı sayıda lam kullanın. Sıcaklık inkübasyonu olan adımlarda sekizden fazla lam kullanılmamasını öneririz
Lamlar iyice yıkanmamış	Belirtilen adımlarda taze ve yeterli miktarda yıkama tamponu ve deiyonize veya distile su kullanın.
Kesitler hibridizasyon sırasında veya sonrasında bir zaman kurumuş	Kesitlerin kurumasını önleyin; nemli kutu kullanın; lameli düzgün şekilde yalıtın
Substrat inkübasyon süresi uzun	Substrat inkübasyon süresini düşürün
Parafin giderme tamamlanmamış	Taze solüsyonlar kullanın; parafin giderme işleminin süresini kontrol edin
Proteolitik ön işlem çok güçlü	Pepsin inkübasyon süresini optimize edin
Lamlar hibridizasyondan önce oda sıcaklığına soğutulmuş	Lamları çabucak hibridizasyon sıcaklığına aktarın

**Sinyaller üst üste gelmiş**

Olası sebep	Önlem
Doku kesitlerinin kalınlıkları uygun değil	3-5 µm kalınlığında mikrotom kesitleri alın

**Örnek lama iyi yapışmamış**

Olası sebep	Önlem
Lamın kaplaması uygun değil	Uygun lamlar (pozitif yüklü) kullanın
Proteolitik ön işlem çok güçlü	Pepsin inkübasyon süresini düşürün

**18. Literatür**

- Bernicot I, et al. (2007) *Cytogenet Genome Res* 118: 345-52.
- Hehne S, et al. (2012) *Pathol Res Pract* 208: 510-7.
- Kazuhiro N, et al. (1997) *Blood* 90: 526-34.
- Lu S, et al. (2004) *Cancer Genet and Cytogenet* 152: 141-5.
- Nishida K, et al. (1989) *Cancer Res* 49: 1275-81.
- Quintero-Rivera F, et al. (2009) *Cancer Genet and Cytogenet* 190: 33-9.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

**19. Revizyon**

Kullanma kılavuzlarının en güncel ve farklı dillerdeki versiyonlarına ulaşmak için [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com) sitesine bakın.

Uzmanlarımız sorularınızı yanıtlamaya hazırdır. Lütfen [help@zytovision.com](mailto:help@zytovision.com) adresine yazınız.



ZytoVision GmbH  
Fischkai 1  
27572 Bremerhaven/ Germany  
Telefon: +49 471 4832-300  
Faks: +49 471 4832-509  
[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)  
E-posta: [info@zytovision.com](mailto:info@zytovision.com)

**Ticari markalar:**

ZytoVision® ve ZytoDot® ZytoVision GmbH'nin ticari markalarıdır.