



ZytoLight

SPEC IGH Dual Color Break Apart Probe

| | | | |
|-----|------------|---|-------------|
| REF | Z-2110-50 | Σ | 5 (0.05 ml) |
| REF | Z-2110-200 | Σ | 20 (0.2 ml) |

Floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) 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

ZytoLight SPEC IGH Dual Color Break Apart Probe (PL67), sitoloji örneklerinde veya formalin-fikse, parafine gömülü örneklerde 14q32.33'teki insan IGH lokusunu içeren translokasyonların floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) ile kalitatif tespitinde kullanılmak içindir. Bu prob ZytoLight FISH Implementation Kits (Ürün No. Z-2028-5/-20 veya Z-2099-20) ile kombine olarak 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) genini içeren yeniden düzenlenmelerin non-Hodgkin lenfomanın sitogenetik belirteci olduğu kabul edilir. NHL'ler tüm hematolojik malinlerin %50'sini temsil eder. IGH geni 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. Floresan *in situ* hibridizasyon tanıda, tedavi seçiminde ve prognostik bilgi sağlamada faydalı bir araçtır.

3. Test prensibi

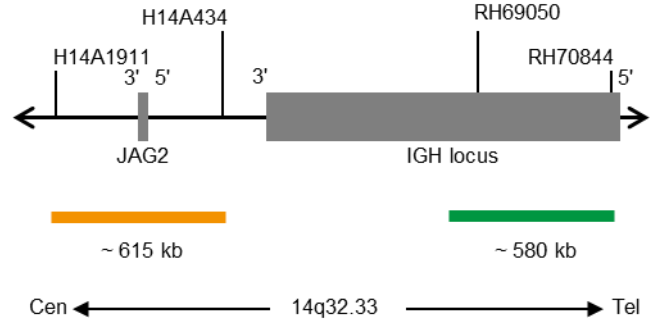
Floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) tekniği hücre preparatlarında spesifik nükleik asit dizilerinin tespit edilmesine ve görüntülenmesine izin verir. FISH problemleri denen floresan işaretli DNA fragmentleri ve bunların preparatlardaki komplementer hedef DNA iplikleri birlikte denatüre edilir ve sonra da hibridizasyon sırasında kaynaşmaları sağlanır. Daha sonra da, spesifik olmayan ve bağlanma yapmayan prob fragmentleri güçlü yıkama adımları ile ortadan kaldırılır.

DAPI ile DNA'nın zıt boyanmasının ardından, hibridize olmuş prob fragmentleri, FISH prob fragmentlerinin doğrudan işaretlendiği florokromlara spesifik eksitasyon ve emisyon filtreleri bulunan bir floresan mikroskopu ile görüntülenir.

4. Sağlanan reaktifler

ZytoLight SPEC IGH Dual Color Break Apart Probe şunları içerir:

- ZyGreen (eksitasyon 503 nm/emisyon 528 nm) işaretli polinükleotidler (~10.0 ng/μl), 14q32.33* (chr14:106,690,778-107,268,412) konumunda bulunan IGH kırılma noktası bölgesinin distalindeki dizileri hedef alır (bknz. Şekil 1).
 - ZyOrange (eksitasyon 547 nm/emisyon 572 nm) işaretli polinükleotidler (~4.5 ng/μl), 14q32.33* (chr14:105,296,741-105,909,611) konumunda bulunan IGH kırılma noktası bölgesinin proksimalindeki dizileri hedef alır (bknz. Şekil 1).
 - Formamid tabanlı hibridizasyon tamponu
- *Human Genome Assembly GRCh37/hg19'a göre



Şekil 1: SPEC IGH Probe yapısı (ölçekli değildir)

ZytoLight SPEC IGH Dual Color Break Apart Probe iki şekilde temin edilir:

- Z-2110-50: 0.05 ml (5 reaksiyon, her biri 10 μl)
- Z-2110-200: 0.2 ml (20 reaksiyon, her biri 10 μl)

5. Gerekli diğer malzemeler

- Pozitif ve negatif kontrol örnekleri
- Hibridizasyon cihazı veya sıcak levha
- Hibridizasyon cihazı veya hibridizasyon etüvünde nemli kutu
- Zaman sayacı
- Boyama kapları veya banyoları
- Kalibre edilmiş termometre
- Ayarlanabilir pipetler (10 μl, 25 μl)
- Etanol veya reaktif dereceli alkol
- Deiyonize veya distile su
- Lamel (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Lastik yalıtım solüsyonu, örn., Fixogum Rubber Cement (Ürün No. E-4005-50/-125) veya benzeri
- Uygun donanımlı floresan mikroskopu (400-1000x)
- Floresan mikroskopu için onaylanmış immersiyon yağı
- Uygun filtre setleri

Sitoloji Örnekleri

- ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit (Ürün No. Z-2099-20)
- Mikroskop lamaları, kaplamasız
- Su banyosu (70°C)
- %37 formaldehid, asit-içermeyen, veya %10 formalin, nötral tamponlu
- 2x Saline-Sodium Citrate (SSC), örn., 20x SSC Solution (Ürün No. WB-0003-50) ile elde edilmiş

FFPE Örnekler

- ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit (Ürün No. Z-2028-5/-20)
- Mikroskop lamaları, pozitif yüklü
- Su banyosu (37°C, 98°C)
- Ksilen

6. Saklama ve kullanma koşulları

2-8°C'de dik olarak ve ışıktan koruyarak saklayın. Işıktan koruyarak kullanın. 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)!
- Reaktifler cilt ile temas ederse cildi derhal bol miktarda su ile yıkayın!
- Profesyonel kullanıcılar için istedikleri takdirde ulaşabilecekleri bir güvenlik bilgi formu bulunmaktadır.
- Reaktifleri tekrar kullanmayın.
- Örnekler arasında çapraz kontaminasyon olmasından sakının, aksi halde hatalı sonuçlara yol açılabilir.
- Prob uzun süreli olarak ışığa, özellikle de güçlü ışığa maruz kalmamalıdır, yani, tüm adımlar mümkün olduğu ölçüde karanlıkta ve/veya ışık geçirmez kutular içinde yürütülmelidir!

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.
- 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 FISH problemleri, reaktifler, tanı panelleri ve yöntemleri hakkında bilgi sahibi olmak yetkin bir patoloğun sorumluluğudur. Boyama işlemi onaylı ve lisanslı bir laboratuvar, 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 değişkenliklerden 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 doğrulanması kullanıcı tarafından yapılmalıdır.

9. Etkileşimli maddeler

Örnek içinde bulunan alyuvarlar otofloresan gösterebilir ve sinyalin tanınmasına engel olabilir.

Aşağıdaki fiksatifler FISH ile uyumlu değildir:

- Bouin's fiksatif
- B5 fiksatif
- Asidik fiksatifler (örn., pikrik asit)
- Zenker's fiksatif
- Alkoller (tek başına kullanıldığında)
- Civa klorür
- Formaldehit/çinko fiksatif
- Hollande's fiksatif
- Tamponsuz formalin

10. Örneklerin hazırlanması

Sitoloji Örnekleri

- Örnekleri ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit kullanma kılavuzunda belirtilen şekilde hazırlayın.

FFPE Örnekler

- Oda sıcaklığında 24 saat %10 nötral tamponlu formalin ile fiksasyon (18-25°C).
- Örnek büyüklüğü $\leq 0.5 \text{ cm}^3$.
- En üst kalitede parafin kullanın.
- Gömme işlemi 65°C'den daha düşük sıcaklıklarda yapılmalıdır.
- Mikrotom ile 2-4 μm 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, ışıktan koruyun. Tüpü açmadan önce vorteks ile çalkalayın ve kısaca spin edin.

12. Çalışma prosedürü

Sitoloji Örnekleri

Örneğin ön işlemi

Örneğin ön işlemini ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit kullanma kılavuzuna göre yapın.

Denatürasyon ve hibridizasyon

1. Ön işlemi yapılmış her bir örneğin üzerine 10 μl 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 72°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, zıt boyama, floresan mikroskobu incelemesi) [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kits](#) kullanma kılavuzuna göre yapın.

FFPE Örnekler**Örneğin ön işlemi**

Örneğin ön işlemi (parafin giderme, proteoliz) [ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit](#) kullanma kılavuzuna göre yapın.

Denatürasyon ve hibridizasyon

1. Ön işlemi yapılmış her bir örneğin üzerine 10 µl 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 75°C'de 10 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, zıt boyama, floresan mikroskobu incelemesi) [ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kits](#) kullanma kılavuzuna göre yapın.

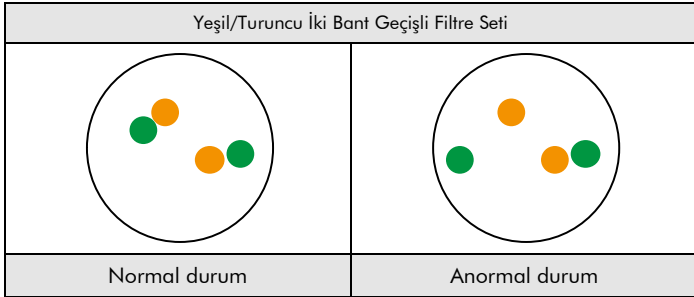
13. Sonuçların yorumlanması

Uygun filtre setleri kullanıldığında probun hibridizasyon sinyalleri yeşil (IGH kırılma noktası bölgesinin distali) ve turuncu (IGH kırılma noktası bölgesinin proksimali) olarak gözlenir

Normal durum: Normal hücrelerin veya IGH lokusunu içeren bir translokasyonu olmayan hücrelerin interfazlarında iki adet yeşil/turuncu birleşik sinyal gözlenir (bknz. Şekil 2).

Anormal durum: Bir translokasyondan etkilenmiş bir IGH lokusu ayrı bir yeşil sinyal ve ayrı bir turuncu sinyal olarak görülür (bknz. Şekil 2).

Üst üste gelen sinyaller sarı renkli sinyaller olarak görülebilir.



Şekil 2: Normal ve anormal hücre çekirdeklerinde beklenen sonuçlar

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

16p11.2 ve 15q11.2'de IGH homoloğu diziler nedeniyle soluk çapraz-hibridizasyonlar gözlenebilir.

IGHC veya IGHV genlerinin tamamen veya kısmen kaybolması ve de diğer lokuslara kriptik insersiyonların olması nedeniyle başka anormal sinyal modelleri meydana gelebilir. Bundan başka, allellerin birinde veya her ikisinde yeşil sinyallerin bulunmaması ya da küçülmüş olması normal somatik V-D-J rekombinasyonundan kaynaklanan IGHV genleri delesyonlarını gösterebilir.

Bazı anormal örneklerde yukarıda belirtilenden farklı bir sinyal modeli oluşturabilen başka sinyal dağılımları gözlenebilir ve bu varyant yeniden düzenlenmelerini gösterir. Beklenmeyen sinyal modelleri daha fazla araştırılmalıdır.

Lütfen dikkat edin:

- Kromatinin yoğunluğunu kaybetmesinden dolayı tek FISH sinyalleri küçük kümeler gibi görünebilir. Bu yüzden, aralarında 1 sinyal çapından daha düşük veya ona eşit mesafe bulunan aynı büyüklükteki iki veya üç sinyal tek sinyal sayılmalıdır.
- Üst üste olan hücre çekirdeklerini değerlendirmeyin.

- Aşırı sindirilmiş hücre çekirdeklerini (çekirdek içinde görülen karanlık alanlar sayesinde belli olur) saymayın.
- Güçlü otofloresan gösteren hücre çekirdeklerini saymayın; bunlar sinyal tanınmasına engel olurlar.
- 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.

Dış kontrol: Doğrulanmış pozitif ve negatif kontrol örnekleri.

15. Performans özellikleri**Sitoloji Örnekleri**

Performans [ZytoLight FISH-Cytology Implementation Kit](#) kullanma kılavuzuna göre değerlendirilmiştir.

Doğruluk: Probu hibridizasyon lokasyonu karyotip olarak normal bir erkeğin metafaz yaymalarında değerlendirilmiştir. Test edilen tüm örneklerde prob yalnızca beklenen lokuslara hibridize olmuştur. Başka sinyal veya çapraz-hibridizasyon gözlenmemiştir. Bu yüzden doğruluk %100 olarak hesaplanmıştır.

Analitik duyarlılık: Analitik duyarlılık değerlendirmesinde prob, karyotip olarak normal erkeklerin metafaz yaymalarında değerlendirilmiştir. Test edilen tüm örneklerde tüm hücre çekirdeklerinde beklenen normal sinyal modeli gözlenmiştir. Bu yüzden analitik duyarlılık %100 olarak hesaplanmıştır.

Analitik özgüllük: Analitik özgüllük değerlendirmesinde prob, karyotip olarak normal erkeklerin metafaz yaymalarında değerlendirilmiştir. Test edilen tüm örneklerde tüm sinyaller yalnızca beklenen hedef lokuslara hibridize olmuş, başka lokusa olmamıştır. Bu yüzden analitik özgüllük %100 olarak hesaplanmıştır.

FFPE Örnekler

Performans [ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit](#) kullanma kılavuzuna göre değerlendirilmiştir.

Doğruluk: Probu hibridizasyon lokasyonu karyotip olarak normal bir erkeğin metafaz yaymalarında değerlendirilmiştir. Test edilen tüm örneklerde prob yalnızca beklenen lokuslara hibridize olmuştur. Başka sinyal veya çapraz-hibridizasyon gözlenmemiştir. Bu yüzden doğruluk %100 olarak hesaplanmıştır.

Analitik duyarlılık: Analitik duyarlılık değerlendirmesinde prob, karyotip olarak normal erkeklerin metafaz yaymalarında değerlendirilmiştir. Test edilen tüm örneklerde tüm hücre çekirdeklerinde beklenen normal sinyal modeli gözlenmiştir. Bu yüzden analitik duyarlılık %100 olarak hesaplanmıştır.

Analitik özgüllük: Analitik özgüllük değerlendirmesinde prob, karyotip olarak normal erkeklerin metafaz yaymalarında değerlendirilmiştir. Test edilen tüm örneklerde tüm sinyaller yalnızca beklenen hedef lokuslara hibridize olmuş, başka lokusa olmamıştır. Bu yüzden 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. Bu kısımda bulunan ipuçlarının bazıları yalnızca [ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit](#) kullanımında geçerlidir.

Zayıf sinyaller veya hiç sinyal bulunmaması

| Olası sebep | Önlem |
|---|---|
| Hedef dizi bulunmuyor | Uygun kontroller kullanın |
| Hücre veya doku örneği doğru fikse olmamış | Fiksasyon süresini ve fiksatif optimize edin veya <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u> kullanma kılavuzunun "çalışma prosedürü" kısmında anlatılan fiksasyon sonrası adımı uygulayın |
| Isı ön işlemi, proteoliz, denatürasyon, hibridizasyon veya güçlü yıkama sıcaklığı doğru değil | Kullanılan tüm teknik araçların sıcaklığını kalibre edilmiş bir termometre ile kontrol edin |
| Proteolitik ön işlem doğru yapılmamış | Pepsin inkübasyon süresini optimize edin, gerekirse artırın veya azaltın |
| 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 kurumasını önlemek için lamel iyice yalıtılmalıdır (örn. Fixogum ile) |
| Çok düşük konsantrasyonlu güçlü yıkama tamponu | Güçlü yıkama tamponunun konsantrasyonunu kontrol edin |
| Eski dehidrasyon solüsyonları | Taze dehidrasyon solüsyonları hazırlayın |
| Floresan mikroskopu yanlış ayarlanmış | Doğru ayarlayın |
| Uygun olmayan filtre setleri kullanılmış | Probun florokromlarına uygun filtre setleri kullanın. <i>Üç bant geçişli filtre setleri tek veya iki bant geçişli filtrelere göre daha az ışık sağlar. Sonuç olarak, bu üç bant geçişli filtre setleri kullanıldığında sinyaller daha zayıf görünebilir</i> |
| Probların/floforforların ışıktan zarar görmesi | Hibridizasyon ve yıkama adımlarını karanlıkta yapın |

Çapraz hibridizasyon sinyalleri; kötü zemin

| Olası sebep | Önlem |
|---|---|
| Parafin giderme tamamlanmamış | Taze solüsyonlar kullanın; parafin giderme işleminin süresini kontrol edin |
| Proteolitik ön işlem çok güçlü | Pepsin inkübasyon süresini azaltın |
| Alana düşen prob hacmi çok yüksek | Örneğe/alana düşen prob hacmini azaltın, bir yerde fazla olmasını önlemek için probu damlatarak dağıtın |
| Lamlar hibridizasyondan önce oda sıcaklığına soğutulmuş | Lamları çabucak 37°C'ye geçirin |
| Güçlü yıkama tamponunun konsantrasyonu çok yüksek | Güçlü yıkama tamponunun konsantrasyonunu kontrol edin |
| Hibridizasyonu takip eden yıkamanın sıcaklığı çok düşük | Sıcaklığı kontrol edin; gerekirse yükseltin |
| İnkübasyon adımları arasında örnekler dehidre olmuş | Lamların yalıtımını sağlayarak ve inkübasyonu nemli ortamda yaparak dehidrasyon olmasını önleyin |

Bozuk morfoloji

| Olası sebep | Önlem |
|--|---|
| Hücre veya doku örneği doğru fikse olmamış | Fiksasyon süresini ve fiksatif optimize edin veya <u>ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit</u> kullanma kılavuzunun "çalışma prosedürü" kısmında anlatılan fiksasyon sonrası adımı uygulayın |
| Proteolitik ön işlem doğru yapılmamış | Pepsin inkübasyon süresini optimize edin, gerekirse artırın veya azaltın |
| Probun uygulanmasından önce yeterli kurutma yapılmamış | Havada kuruma süresini uzatın |

Hücre çekirdekleri üst üste gelmiş

| Olası sebep | Önlem |
|--|---|
| Doku kesitlerinin kalınlıkları uygun değil | 2-4 µm kalınlığında mikrotom kesitleri alın |

Örnek lama iyi yapışmamış

| Olası sebep | Önlem |
|--------------------------------|------------------------------------|
| Lamin kaplaması uygun değil | Uygun lamlar kullanın |
| Proteolitik ön işlem çok güçlü | Pepsin inkübasyon süresini düşürün |

Zayıf zıt boyanma

| Olası sebep | Önlem |
|--|---|
| DAPI solüsyonunun konsantrasyonu düşük | <u>DAPI/DuraTect-Solution (ultra)</u> (Ürün No. MT-0008-0.8) kullanın |
| DAPI inkübasyon süresi çok kısa | DAPI inkübasyon süresini ayarlayın |

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.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Lu S, et al. (2004) *Cancer Genet and Cytogenet* 152: 141-5.
- Nishida K, et al. (1997) *Blood* 90: 526-34.
- 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.

Uzmanlarımız sorularınızı yanıtlamaya hazırdır.
Lütfen 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
E-posta: info@zytovision.com

Ticari markalar:

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