



ZytoDot 2C CISH Implementation Kit

REF C-3044-10 ∇_{Σ} 10

REF C-3044-40 ∇_{Σ} 40

Til bruk i prosedyrer for kromogen *in situ*-hybridisering (CISH)

4250380N717V



IVD

In vitro diagnostisk medisinsk utstyr

i henhold til IVDR (EU) 2017/746

1. Beregnet bruk

ZytoDot 2C CISH Implementation Kit er beregnet til å brukes i kombinasjon med digoksigenin-/dinitrofenylmerkede ZytoDot 2C CISH-sonder på formalinfikserte, parafininnstøpte prøver ved hjelp av kromogen *in situ*-hybridisering (CISH).

Produktet er kun beregnet til profesjonell bruk. Alle tester som bruker produktet skal utføres i et sertifisert, lisensiert anatomisk patologilaboratorium av kvalifisert personell og under tilsyn av en patolog/humangenetiker.

2. Testprinsipp

Den kromogene *in situ* hybridiseringsteknikken (CISH) tillater påvisning og visualisering av spesifikke nukleinsyresekvenser i cellepreparater. Haptenmerkede nukleotidfragmenter, såkalte CISH-sonder, og deres komplementære målsekvenser i preparatene ko-denatureres og får deretter anneale under hybridisering. Deretter fjernes uspesifikke og ubundne sondefragmenter med stringente vasketrinn. Dupleksdannelse av den merkede sonden kan visualiseres ved å bruke primære (umerkede) antistoffer, som påvises av sekundære polymeriserte enzymkonjugerte antistoffer. Den enzymatiske reaksjonen med kromogene substrater fører til dannelse av fargede utfellinger. Etter å ha motfarget kjernen med et nukleært fargestoff, blir hybridiserte sondefragmenter visualisert ved lysmikroskopi.

3. Reagenser som følger med

ZytoDot 2C CISH Implementation Kit er tilgjengelig i to størrelser og består av:

Kode	Komponent	Mengde		Beholder
		40 ∇_{Σ}	10 ∇_{Σ}	
PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	500 ml	150 ml	Flaske med skruhetts (stor)
ES1	Pepsin Solution	4 ml	1 ml	Dråpeflaske, hvit hette
WB1	Wash Buffer SSC	560 ml	210 ml	Flaske med skruhetts (stor)
WB5	20x Wash Buffer TBS	2x 50 ml	50 ml	Flaske med skruhetts
AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	4 ml	1 ml	Dråpeflaske, gul hette
AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	4 ml	1 ml	Dråpeflaske, blå hette
SB6a	AP-Red Solution A	0,4 ml	0,1 ml	Dråpeflaske, rød hette (liten)
SB6b	AP-Red Solution B	15 ml	4 ml	Dråpeflaske, rød hette
SB7a	HRP-Green Solution A	0,8 ml	0,2 ml	Dråpeflaske, grønn hette (liten)
SB7b	HRP-Green Solution B	15 ml	4 ml	Dråpeflaske, grønn hette
CS2	Nuclear Blue Solution	20 ml	4 ml	Flaske med skruhetts, svart
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	1 ml	Glassflaske, brun
	AP-Red-reaksjonskar	2	1	Gradinndelt kopp, rødt lokk
	HRP-Green-reaksjonskar	2	1	Gradinndelt kopp, grønt lokk
	Bruksanvisning	1	1	

C-3044-10 (10 tester): Komponenter **ES1**, **AB14**, **AB13**, **SB6a-b**, **SB7a-b**, **CS2** og **MT4** er tilstrekkelig til 10 reaksjoner. Komponent **PT2** er tilstrekkelig for 2 fargingsbeholdere på 70 ml hver. Komponent **WB1** er tilstrekkelig for 3 fargingsbeholdere på 70 ml hver. Komponent **WB5** er tilstrekkelig for 14 fargingsbeholdere på 70 ml hver.

C-3044-40 (40 tester): Komponenter **ES1**, **AB14**, **AB13**, **SB6a-b**, **SB7a-b**, **CS2** og **MT4** er tilstrekkelig til 40 reaksjoner. Komponent **PT2** er tilstrekkelig for 7 fargingsbeholdere på 70 ml hver. Komponent **WB1** er tilstrekkelig for 8 fargingsbeholdere på 70 ml hver. Komponent **WB5** er tilstrekkelig for 28 fargingsbeholdere på 70 ml hver.

4. Materialer som kreves, men som ikke medfølger

- ZytoDot 2C CISH-sonde
- Positive og negative kontrollprøver
- Mikroskopobjektglass, positivt ladet
- Vannbad (80 °C, 98 °C)
- Hybridiseringsenhet eller varmeplate
- Hybridiseringsenhet eller fuktighetskammer i hybridiseringsovn
- Justerbare pipetter (10 μ l, 1000 μ l)
- Fargekrukker eller -bad
- Tidsur
- Kalibrert termometer
- Etanol eller reagensalkohol
- Xylen
- Metanol 100 %
- Hydrogenperoksid (H₂O₂) 30 %
- Avionisert eller destillert vann
- Dekkglass (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Gummisement, f.eks. Fixogum Rubber Cement (Prod. nr. E-4005-50/-125) eller lignende
- Tilstrekkelig vedlikeholdt lysmikroskop (400-630x)

5. Oppbevaring og håndtering

Oppbevares ved 2–8 °C i oppreist stilling. Returneres til lagringsbetingelsene umiddelbart etter bruk. Ikke bruk reagenser etter utløpsdato angitt på etiketten. Produktet er stabilt til utløpsdato angitt på etiketten ved riktig håndtering.

6. Advarsler og forholdsregler

- Les bruksanvisningen før bruk!
- Ikke bruk reagensene etter at utløpsdatoen er nådd!
- Dette produktet inneholder stoffer (i lave konsentrasjoner og volumer) som er helseskadelige. Unngå all direkte kontakt med reagensene. Iverksett egnede beskyttelseiltak (bruk engangshansker, vernebriller og laboratorieklær!)
- Rapport alle alvorlige hendelser som har forekommet i forhold til produktet til produsenten og den kompetente myndigheten i henhold til lokale forskrifter!
- Hvis reagenser kommer i kontakt med huden, må huden skylles umiddelbart med rikelige mengder vann!
- Et sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på forespørsel for profesjonelle brukere.
- Ikke gjenbruk reagenser, med mindre gjenbruk er uttrykkelig tillatt!
- Unngå krysskontaminering av prøver da dette kan føre til feil resultater.
- Prøvene må ikke få tørke under hybridiserings- og vasketrinnene.

Fare- og sikkerhetssetninger for AB13, AB14, PT2, SB7b, WB1 og WB5:

Den farebestemmende komponenten er en reaksjonsmasse av: 5-klor-2-metyl-4-isotiazolin-3-on [EF-nr. 247-500-7] og 2-metyl-2H-isotiazol-3-on [EF-nr. 220-239-6] (3:1).



Advarsel

- H317 Kan utløse en allergisk hudreaksjon.
 P261 Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.
 P272 Tilsølte arbeidsklær må ikke fjernes fra arbeidsplassen.
 P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
 P302+P352 VED HUDKONTAKT: Vask med mye vann.
 P333+P313 Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp.
 P362+P364 Tilsølte klær må fjernes og vaskes før bruk.

Fare- og sikkerhetssetninger for SB7a:

De farebestemmende komponentene er metanol og hydrogenperoksidløsning 30 %.



Fare

- H225 Meget brannfarlig væske og damp.
 H301+H311 Giftig ved svelging, hudkontakt eller innånding.
 H370 Forårsaker organskader.
 P210 Holdes vekk fra varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antenningskilder. Røyking forbudt.
 P233 Hold beholderen tett lukket.
 P260 Ikke innånd støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.
 P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
 P308+P311 Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER eller lege.
 P403+P235 Oppbevares på et godt ventilert sted. Oppbevares kjølig.

Fare- og sikkerhetssetninger for CS2:

Den farebestemmende komponenten er etandiol, etylenglykol.



Advarsel

- H373 Kan forårsake nyreskader ved langvarig eller gjentatt eksponering ved svelging.
 P260 Ikke innånd støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.
 P314 Søk legehjelp ved ubehag.

Fare- og sikkerhetssetninger for MT4:

Den farebestemmende komponenten er xylen.



Advarsel

- H226 Brannfarlig væske og damp.
 H312+H332 Farlig ved hudkontakt eller innånding.
 H315 Irriterer huden.
 H319 Forårsaker alvorlig øyeirritasjon.
 H335 Kan forårsake irritasjon av luftveiene.
 H373 Kan forårsake organskader ved langvarig eller gjentatt eksponering.
 P210 Holdes vekk fra varme, varme overflater, gnister, åpen ild og andre antenningskilder. Røyking forbudt.
 P260 Ikke innånd støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.
 P280 Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
 P305+P351+P338 VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.
 P337+P313 Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp.
 P403+P235 Oppbevares på et godt ventilert sted. Oppbevares kjølig.
 EUH208 Inneholder metyl 2-metylprop-2-enoat; metyl 2-metylpropenoat; metylmetakrylat.
 Kan gi en allergisk reaksjon.

Fare- og sikkerhetssetninger for SB6a:

- H412 Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.
 P273 Unngå utslipp til miljøet.

Spesiell merking for ES1:

- EUH208 Inneholder Pepsin A. Kan gi en allergisk reaksjon.
 EUH210 Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på anmodning.

7. Begrensninger

- Til *in vitro* diagnostisk bruk.
- Kun til profesjonell bruk.
- Kun til ikke-automatisert bruk.
- Den kliniske tolkningen av enhver positiv farging, eller fravær av dette, må gjøres innenfor konteksten av klinisk historie, morfologi, andre histopatologiske kriterier og andre diagnostiske tester. Det er en kvalifisert patolog/humangenetikers ansvar å være kjent med ISH-sondene, reagensene, diagnosepanelene og metodene som brukes til å produsere det fargede preparatet. Farging må utføres i et sertifisert, lisensiert laboratorium under tilsyn av en patolog/humangenetiker som er ansvarlig for å gjennomgå de fargede objektglassene og sørge for adekvate positive og negative kontroller.
- Prøvefarging, spesielt signalintensitet og bakgrunnsfarging, avhenger av håndtering og behandling av prøven før farging. Feil fiksering, frysing, tining, vasking, tørking, oppvarming, oppdeling eller kontaminering med andre prøver eller væsker kan gi artefakter eller falske resultater. Inkonsistente resultater kan skyldes variasjoner i fikserings- og innstøpingsmetoder og iboende uregelmessigheter i prøven.



- Informasjon om materialer som kreves til ISH-prosedyrer finnes i bruksanvisningen for den respektive ZytoVision-sonden og implementeringssettet. Endringer i disse prosedyrene kan endre ytelsen og må valideres av brukeren. Denne IVDen er kun sertifisert som CE når den brukes som beskrevet i denne bruksanvisningen innenfor rammen av beregnet bruk.

8. Forstyrrende stoffer

Følgende fikseringsmidler er uforenlige med ISH:

- Bouins fikseringsmiddel
- B5 fikseringsmiddel
- Sure fikseringsmidler (f.eks. pikrinsyre)
- Zenkers fikseringsmiddel
- Alkoholer (når de brukes alene)
- Kvikksølvklorid
- Formaldehyd/sinkfiksativ
- Hollandes fikseringsmiddel
- Ikke-bufret formalin

9. Klargjøring av prøver

Anbefalinger:

- Unngå krysskontaminering av prøver i ethvert klargjøringstrinn, da dette kan føre til feil resultater.
- Fiksering i 10 % nøytralt bufret formalin i 24 timer ved romtemperatur (18–25 °C).
- Prøvestørrelse $\leq 0,5 \text{ cm}^3$.
- Bruk parafin av høy kvalitet.
- Innstøping bør utføres ved temperaturer lavere enn 65 °C.
- Klargjør 3–5 μm mikrotomseksjoner.
- Bruk positivt ladede objektglass.
- Fikser vevsseksjoner i 2–16 timer ved 50–60 °C.

10. Forberedende behandling av enheten

20x Wash Buffer TBS (WB5) skal klargjøres i samsvar med instruksjonene i 11. «Analyseprosedyre». Alle andre reagenser i settet er klare til bruk. Ingen rekonstituering, blanding eller fortynning er nødvendig. Bring sonden til romtemperatur og bland raskt før bruk.

11. Analyseprosedyre

11.1 Dag 1

Klargjøringstrinn

1. Klargjør en etanolserie (70 %, 90 % og 100 % etanoløsninger): Fortynn 100 % etanol med avionisert eller destillert vann. Disse løsningene kan oppbevares i egnede beholdere og kan brukes på nytt.
2. Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2): Varm opp til 98 °C i en tildekt fargingsbeholder.
3. Klargjøring av 3 % H₂O₂: Fortynn 1 del 30 % H₂O₂ i 9 deler 100 % metanol.
4. ZytoDot 2C CISH-sonde: Bring til romtemperatur før bruk.

Forbehandling (avvoksing/proteolyse)

1. Inkuber objektglassene i 10 minutter ved 70 °C (f.eks. på en varmeplate).
2. Inkuber objektglassene i 2x 5 min i xylen.
3. Inkuber objektglassene i 3x 3 min i 100 % etanol.
4. Inkuber objektglassene i 5 min i 3 % H₂O₂.
5. Vask objektglassene 2x 1 min i avionisert eller destillert vann.
6. Inkuber i 15 min i en forvarmet Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2) ved 98 °C.

Bruk åtte objektglass per fargingsbeholder (legg til tomt objektglass ved behov).

7. Overfør objektglassene umiddelbart til avionisert eller destillert vann og vask i 2x 2 min.
8. Påfør (dråpevis) Pepsin Solution (ES1) i prøven og inkuber i 5–15 min ved 37 °C i et fuktighetskammer.

ES1 kan danne bunnfall, som ikke påvirker kvaliteten.

Som en generell regel anbefaler vi å fastslå optimal tid for proteolyse i forhåndstester.

9. Senk objektglassene ned i avionisert eller destillert vann.
10. Dehydrer i: 70 %, 90 % og 100 % etanol, hver i 1 min.
11. Lufttørk seksjonene.

Merk: Sørg for å lufttørke seksjonene helt før sondeapplisering.

Denaturering og hybridisering

1. Pipetter 10 μl av sonden på hver forbehandlet prøve.
2. Dekk prøver med et 22 mm x 22 mm dekkglass (unngå fastklemte bobler) og forsegl dekkglasset.

Vi anbefaler å bruke gummisement (f.eks. Fixogum) for tetting.

3. Plasser objektglassene på en varmeplate eller hybridisator og denaturer prøvene i 5 minutter ved 79 °C.
4. Overfør objektglassene til et fuktighetskammer og hybridiser over natten ved 37 °C (f.eks. i en hybridiseringsovn).

Det er viktig at prøvene ikke tørker ut under hybridiseringstrinnet.

11.2 Dag 2

Klargjøringstrinn

1. Wash Buffer SSC (WB1): For en stringent vask varmer du opp til 80 °C i en tildekt fargingsbeholder. **WB1** kan danne bunnfall ved 2–8 °C, noe som ikke påvirker kvaliteten og vil bli oppløst ved oppvarming.
2. Klargjøring av 1x Wash Buffer TBS: Fortynn 1 del 20x Wash Buffer TBS (WB5) med 19 deler avionisert eller destillert vann.

Fortynnet 1x Wash Buffer TBS er stabilt i én uke når det oppbevares ved 2–8 °C.

3. Anti-DIG/DNP-Mix (AB14), HRP/AP-Polymer-Mix (AB13), AP-Red Solution A (SB6a), AP-Red Solution B (SB6b), HRP-Green Solution A (SB7a), HRP-Green Solution B (SB7b), Nuclear Blue Solution (CS2), Mounting Solution (alcoholic) (MT4): Bring til romtemperatur før bruk.

*Komponentene **SB7a** og **SB7b** kan danne bunnfall, som ikke påvirker fargingskvaliteten.*

Post-hybridisering og påvisning

1. Fjern gummisementen eller limet varsomt.
2. Fjern dekkglasset ved å senke objektglassene ned i Wash Buffer SSC (WB1) ved romtemperatur i 5 min.

WB1 kan brukes på nytt én gang. Oppbevar ved 2–8 °C i høyst én uke.

3. Vask objektglassene i 5 min i Wash Buffer SSC (WB1) ved 80 °C.

Bruk åtte objektglass per fargingsbeholder (legg til tomt objektglass ved behov).

4. Vask objektglassene 2x 1 min i avionisert eller destillert vann.
5. Senk objektglassene i 1x Wash Buffer TBS.
6. Påfør Anti-DIG/DNP-Mix (AB14) (1–2 dråper per objektglass) på objektglassene og inkuber i 15 min ved 37 °C i et fuktighetskammer.
7. Vask objektglassene i 3x 1 min i 1x Wash Buffer TBS.
8. Påfør HRP/AP-Polymer-Mix (AB13) (1–2 dråper per objektglass) på objektglassene og inkuber i 15 min ved 37 °C i et fuktighetskammer.
9. Vask objektglassene i 3x 1 min i 1x Wash Buffer TBS.
10. Klargjør AP-Red Solution (arbeidsløsning): fyll 1 ml AP-Red Solution B (**SB6b**) i en gradinndelt kopp og tilsett én dråpe (30 μl) AP-Red Solution A (**SB6a**). Bland godt.
11. Påfør AP-Red Solution (1–2 dråper per objektglass) på objektglassene og inkuber i mørket i 10 min ved romtemperatur.
12. Under inkubasjonen klargjør du HRP-Green Solution (arbeidsløsning): fyll 1 ml HRP-Green Solution B (SB7b) i en gradinndelt kopp og tilsett to dråper (2x 20 μl) HRP-Green Solution A (SB7a). Bland godt.
13. Vask objektglassene i 2 min i avionisert eller destillert vann.
14. Påfør HRP-Green Solution dråpevis (1–2 dråper per objektglass) på objektglassene og inkuber i mørket i 10 min ved romtemperatur.
15. Vask objektglassene i 2 min i avionisert eller destillert vann.
16. Kontrastfarg prøvene i 2 min med Nuclear Blue Solution (CS2).
17. Overfør objektglassene til en fargingsbeholder og vask i 2 min under kaldt rennende vann fra springen.
18. Dehydrer 3x 30 sek i 100 % etanol (bruk svært rent etanol).
19. Inkuber objektglassene i 2x 30 sek i xylen (bruk svært rent xylen).

Inkubasjonstiden må ikke forlenges eller forkortes, da dette kan føre til signaltapp!

20. For å unngå luftbobler, dekk prøvene med et dekkglass (22 mm x 22 mm; 24 mm x 32 mm) ved bruk av Mounting Solution (alcoholic) (MT4). Vent i 20–30 min til dekkglasset blir immobilisert.

Bruk av en pipettespiss som er kuttet av for å øke størrelsen på åpningen, kan gjøre pipetteringsprosessen enklere.

21. Evaluer fargede prøver ved bruk av lysmikroskopi.



12. Tolking av resultater

Ved bruk av ZytoDot 2C CISH Implementation Kit vises hybridiseringssignaler fra digoksigeninmerkede polynukleotider som mørkegrønne tydelige prikker, og dinitrofenylmerkede polynukleotider vises som mørkerøde tydelige prikker. I interfaser eller metafaser av normale celler eller celler uten aberrasjoner i de undersøkte kromosomene, oppstår to signaler per sonde-/haptenetikett, bortsett fra sonder rettet mot X- og/eller Y-kromosomer, hvilket resulterer i null til to signaler per sonde-/haptenetikett, avhengig av kjønn. I celler med kromosomaberrasjoner kan et annet signalmønster være synlig i interfaser eller metafaser. Se bruksanvisningen for den relevante ZytoDot 2C CISH-sonden for mer informasjon om resultatolkning.

13. Anbefalte kvalitetskontrollprosedyrer

Se bruksanvisningen for den respektive ZytoVision-sonden.

14. Ytelseegenskaper

Se bruksanvisningen for den respektive ZytoVision-sonden.

15. Avfallsbehandling

Avfallsbehandling av reagenser må utføres i henhold til lokale forskrifter.

16. Feilsøking

Ethvert avvik fra bruksanvisningen kan føre til dårligere fargerresultater eller ingen farging i det hele tatt. Se www.zytovision.com for mer informasjon.

Svake signaler eller ingen signaler i det hele tatt

Mulig årsak	Handling
Proteolytisk forbehandling ikke utført riktig	Optimer pepsin-inkubasjonstiden, øk eller reduser om nødvendig
Sondefordampning	Ved bruk av hybridisator er bruk av de våte stripene/vannfylte tankene obligatorisk. Ved bruk av en hybridiseringsovn er det nødvendig med bruk av et fuktighetskammer. I tillegg bør dekkglasset forsegles fullstendig, f.eks. med Fixogum, for å forhindre uttørring av prøven under hybridisering
Motfargingstid for lang	Unngå mørk motfarging, fordi det kan skjule positive fargingssignaler
Blåning av motfarge ikke utført på riktig måte	Bruk kaldt rennende vann fra springen til å blåne; ikke bruk varmt eller varmt vann, eller blånende reagenser

Signalene er for sterke

Mulig årsak	Handling
Proteolytisk forbehandling utført for lenge	Optimer pepsin-inkubasjonstiden, øk eller reduser om nødvendig
Inkubasjonstiden for AP-Red Solution er ikke korrekt	Om nødvendig kan inkubasjonstiden forkortes til 5 min. Ikke varm opp substratløsningen til over 25 °C; inkuber kun ved romtemperatur
Inkubasjonstiden for HRP-Green Solution er ikke korrekt	Om nødvendig kan inkubasjonstiden forkortes til 7 min. Ikke varm opp substratløsningen til over 25 °C; inkuber kun ved romtemperatur

Røde signaler er for svake

Mulig årsak	Handling
AP-Red Solution ble utsatt for sterkt direkte lys	Forbered og bruk AP-Red Solution beskyttet mot sterkt direkte lys
AP-Red Solution ble forberedt for tidlig	Forbered før umiddelbar bruk

Inkubasjonstiden for AP-Red Solution er ikke korrekt	Om nødvendig kan inkubasjonstiden forlenges til 15 min
Utilstrekkelig klargjøring av kromogent substrat	Ikke øk volumet av løsning A

Grønne signaler for svake

Mulig årsak	Handling
Inkubasjonstid for eventuelle vasketrinn etter farging med HRP-Green for lang	Ikke overskrid gitte inkubasjonstider
Inkubasjonstiden for HRP-Green Solution er ikke korrekt	Om nødvendig kan inkubasjonstiden forlenges til 15 min
Utilstrekkelig klargjøring av kromogent substrat	Ikke øk volumet av løsning A

Signaler blekner eller smelter sammen

Mulig årsak	Handling
Det er brukt en uegnet monteringsløsning	Bruk kun monteringsløsningen som følger med settet eller xylenbaserte monteringsløsninger fri for urenheter; ikke bruk dekktape
Seksjoner ble ikke dehydrert skikkelig	Bruk fersk etanol og xylenløsninger; bruk kun xylen av "ren" kvalitet

Ujevn eller til dels kun svært lett farging

Mulig årsak	Handling
Ufullstendig avvoksing	Bruk ferske løsninger; sjekk varigheten av avvoksingstidene
Reagensvolumet er for lite	Sørg for at reagensvolumet er stort nok til å dekke vevsområdet

Inkonsistente resultater

Mulig årsak	Handling
Utilstrekkelig tørking før sondepåføring	Forleng lufttørringen
For mye vann/vaskebuffer på vev før påføring av pepsin, antistoffer og/eller fargesubstrater	Sørg for at overflødig væske fjernes fra vevsseksjonen ved å blotte eller riste det av objektglasset. Små mengder gjenværende vann/vaskebuffer forstyrrer ikke testen
Variasjoner i vevsfiksering og innstøpingsmetoder	Optimer fikserings- og innebyggingsmetoder
Variasjoner i vevsnettutvikling	Optimer seksjonering

Morfologi degradert

Mulig årsak	Handling
Celle- eller vevsprøve har ikke blitt ordentlig fiksert	Optimer fikseringstid og fikseringsmiddel
Proteolytisk forbehandling ikke utført for lenge	Reduser inkubasjonstiden for pepsin

Krysshybridiseringssignaler; støvende bakgrunn

Mulig årsak	Handling
Seksjoner tørket ut når som helst under eller etter hybridisering	Unngå at seksjoner tørkes ut; bruk fuktighetskammer; forsegle dekkglass ordentlig

Forlenget substratinkubasjonstid	Forkort inkubasjonstiden for substratet
Ufullstendig avvoksing	Bruk ferske løsninger; sjekk varigheten på avvoksing
Proteolytisk forbehandling for sterk	Optimer inkubasjonstiden for pepsin
Objektglass avkjølt til romtemperatur før hybridisering	Overfør objektglassene raskt til hybridiseringstemperatur

Overlappende signaler

Mulig årsak	Handling
Upassende tykkelse på vevssnitt	Forbered 3–5 μm mikrotomseksjoner

Prøven flyter av objektglasset

Mulig årsak	Handling
Proteolytisk forbehandling for sterk	Forkort inkubasjonstiden for pepsin

17. Litteratur

- Isola J, Tanner M (2004) *Methods Mol Med* 97: 133-44.
- Kounelis S, et al. (2005) *Anticancer Res* 25: 939-46.
- Speel EJ, et al. (1994) *J Histochem Cytochem* 42: 1299-307.
- Tsukamoto T, et al. (1991) *Int J Dev Biol* 35: 25-32.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

18. Revisjon

www.zytovision.com

Se www.zytovision.com for den nyeste bruksanvisningen samt for bruksanvisning på forskjellige språk.

Våre eksperter er tilgjengelige for å svare på dine spørsmål.
Kontakt help@zytovision.com



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/Tyskland
Telefon: +49 471 4832-300
Faks: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
E-post: info@zytovision.com

Varemerker:

ZytoVision® og ZytoDot® er varemerker for ZytoVision GmbH.