



FlexISH

### ALK/ROS1 DistinguSH Probe

REF	Z-2203-50	▽	5 (0.05 ml)
-----	-----------	---	-------------

REF	Z-2203-200	▽	20 (0.2 ml)
-----	------------	---	-------------

Do jakościowej detekcji translokacji obejmującej ludzki gen ALK w 2p23.1-p23.2 i gen ROS1 w 6q22.1 metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH)



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

## 1. Przeznaczenie

FlexISH ALK/ROS1 DistinguSH Probe (PL161) jest przeznaczony do jakościowej detekcji translokacji obejmującej ludzki gen ALK w 2p23.1-p23.2 i gen ROS1 w 6q22.1 w próbkach utrwalonych w formalinie i zatopionych w parafinie takich jak tkanki niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) metodą fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH). Sonda jest przeznaczona do stosowania w połączeniu z zestawem FlexISH-Tissue Implementation Kit (Nr kat. Z-2182-5/-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

Zarówno gen ALK, jak i ROS1 kodują transbłonowe receptorowe kinazy tyrozynowe. Rearanżacje wpływające na locus genu ALK lub ROS1 często występują w niedrobnokomórkowym raku płuca (NSCLC). Najczęstszą rearanżacją ALK w NSCLC jest inwersja wpływająca na geny ALK i EML4, obie zlokalizowane na chromosomie 2 [inv (2) (p21p23)]. Inwersja ta skutkuje białkiem fuzyjnym, które jest konstytutywnie aktywowane przez autofosforylację, a to z kolei pośredniczy w transformacji komórek złośliwych przez aktywację dalszych efektorów. TPM3, SDC4, SLC34A2, CD74, EZR lub LRIG3 do domeny kinazy ROS1. Stwierdzono również, że GOPC jest połączony z ROS1 w NSCLC. Fuzyje GOPC-ROS1 wynikają z usunięcia przedziału ok 240 kb w 6q22.1. Gen ROS1 jest ewolucyjnie blisko spokrewniony z rodziną ALK, która stanowi część naukowej podstawy stosowania inhibitorów ALK, jako inhibitorów ROS1. Pacjenci z NSCLC dodatnim ALK i ROS1 odnoszą korzyści z terapii ukierunkowanej na kinazę tyrozynową, takiej jak np. kryzotyńb. Zatem wykrywanie rearanżacji ALK i ROS1 przez fluorescencyjną hybrydyzację *in situ* może mieć znaczenie terapeutyczne.

## 3. Zasada testu

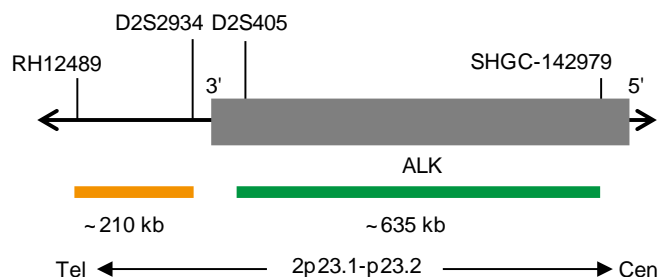
Technika fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH) umożliwia wykrywanie i wizualizację określonych sekwencji kwasów nukleinowych w preparatach komórkowych. Fluorescencyjnie oznakowane fragmenty DNA, nazwane sondami, i ich komplementarne docelowe nici DNA w preparatach są wspólnie denaturowane, a następnie łączą się podczas hybrydyzacji. 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

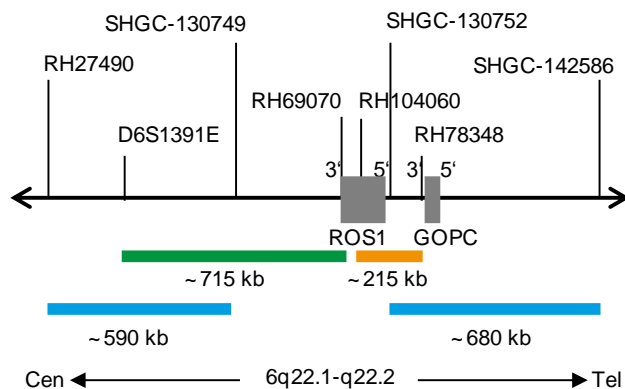
FlexISH ALK/ROS1 DistinguSH Probe składa się z:

- ZyGreen (wzbudzenie 503 nm/emisja 528 nm) wyznakowane polinukleotydy (~10.0 ng/ $\mu$ l), których docelowe sekwencje są zmapowane w 2p23.1-p23.2\* (chr2:29,460,144-30,095,822) proksymalnie do regionu punktu przerwania ALK i w 6q22.1\* (chr6:116,912,298-117,627,255) proksymalnie do regionu punktu przerwania ROS1 (patrz Rys. 1 & Rys. 2).
- ZyOrange (wzbudzenie 547 nm/emisja 572 nm) wyznakowane polinukleotydy (~2.5 ng/ $\mu$ l), których docelowe sekwencje są zmapowane w 2p23.2\* (chr2:29,174,204-29,383,335) dystalnie do regionu punktu przerwania ALK i w 6q22.1\* (chr6:117,659,135-117,871,701) dystalnie do regionu punktu przerwania ROS1 (patrz Rys. 1 & Rys. 2).
- ZyBlue (wzbudzenie 418 nm/emisja 467 nm) wyznakowane polinukleotydy (~70.0 ng/ $\mu$ l), których docelowe sekwencje są zmapowane w 6q22.1\* (chr6:116,671,642-117,260,761) proksymalnie do regionu punktu przerwania ROS1 ko-lokalizujące z wyznakowanymi na zielono polinukleotydami ROS1 i w 6q22.1-q22.2\* (chr6:117,765,211-118,444,005) dystalnie do regionu punktu przerwania ROS1 ko-lokalizujące z wyznakowanymi na pomarańczowo polinukleotydami ROS1 (patrz Rys. 2).
- Bufor do hybrydyzacji oparty na formamidzie.

\* zgodnie z Human Genome Assembly GRCh37/hg19



Rys. 1: ALK Mapa sondy (bez skali)



Rys. 2: ROS1 Mapa sondy (bez skali)

FlexISH ALK/ROS1 DistinguISH Probe jest dostępny w dwóch rozmiarach:

- Z-2203-50: 0.05 ml (5 reakcji po 10  $\mu$ l każda)
- Z-2203-200: 0.2 ml (20 reakcji po 10  $\mu$ l każda)

## 5. Materiały wymagane, ale nie dostarczane

- FlexISH-Tissue Implementation Kit (Nr kat. Z-2182-5/-20)
- Pozytywny i negatywny preparat kontrolny
- Szkiełka mikroskopowe, pozytywnie naładowane
- Łaźnia wodna (37°C, 98°C)
- Hybrydyzator lub płyta grzewcza
- Hybrydyzator lub komora wilgotnościowa w cieplarni do hybrydyzacji
- Regulowane pipety (10  $\mu$ l, 25  $\mu$ l)
- Barwiacze
- Timer
- Skalibrowany termometr
- Etanol lub odczynnik alkoholowy
- Ksylen
- 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

## 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

- 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!
- 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.

## Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia i określające środki ostrożności:

Składnik determinujący zagrożenie to formamid.



### Niebezpieczeństwo

H319	Działa drażniąco na oczy.
H351	Podjeżdza 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.
P260	Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.
P280	Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
P305+P351+P338	W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeśli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać.
P308+P313	W przypadku narażenia lub styczności: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
P337+P313	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 utwalacze 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

### Zalecenia:

- Utrwalanie w 10% neutralnej buforowanej formalinie przez 24 h w temperaturze pokojowej (18-25°C).
- Rozmiar próbki  $\leq 0,5 \text{ cm}^3$ .
- Stosuj parafinę jakości premium.
- Zatapienie powinno się odbywać w temperaturze poniżej 65°C.
- Przygotuj skrawki o grubości 2-4  $\mu\text{m}$ .
- 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

### Obróbka wstępna próbki

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

### Denaturacja i hybrydyzacja

1. Nanieś pipetą 10  $\mu\text{l}$  sondy na każdy przygotowany wstępnie preparat.
  2. Nakryj preparat szkiełkiem nakrywkowym 22 mm x 22 mm (unikaj zamknięcia błędnego 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. Przeprowadź hybrydyzację od 2 h do 16 h (np. przez noc) w 37°C poprzez przeniesienie szkiełek do hybrydyzatora lub do komory wilgotnościowej w ciemności.

*Istotne jest, aby tkanki/komórki nie wyschły podczas etapu hybrydyzacji.*

### Obróbka po hybrydyzacji

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

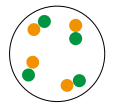
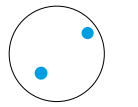
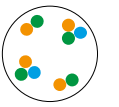
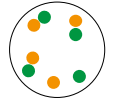
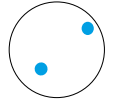
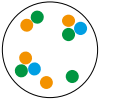
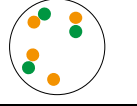
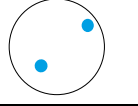

## 13. Interpretacja wyników

Przy użyciu odpowiednich zestawów filtrów, sygnały hybrydyzacji sondy są zielone (proksymalnie do regionu punktu przerwania ALK i ROS1), pomarańczowe (dystalnie do regionu punktu przerwania ALK i ROS1) i niebieskie (proksymalnie i dystalnie do regionu punktu przerwania ROS1).

**Sytuacja normalna:** W interfazach normalnych komórek lub komórek bez rearanżacji obejmującej region genów ALK i ROS1, pojawiają się cztery fuzyjne sygnały pomarańczowo-zielone, przy zastosowaniu odpowiedniego dwupasmowego filtra, i dwa sygnały niebieskie, przy zastosowaniu odpowiedniego jednopasmowego filtra (patrz Rys. 3).

**Sytuacja nieprawidłowa:** Jeden region genu ALK dotknięty translokacją jest wskazywany przez jeden oddzielny zielony sygnał i jeden oddzielny pomarańczowy sygnał nie kolokalizujący z niebieskimi sygnałami. Utrata jednego zielonego sygnału skutkująca wyizolowaniem pomarańczowym sygnałem jest wynikiem usunięcia sekwencji 5'-ALK. Jeden region genu ROS1 dotknięty translokacją jest wskazywany przez jeden oddzielny zielony sygnał i jeden oddzielny pomarańczowy sygnał, każdy kolokalizujący z niebieskim sygnałem. Utrata jednego pomarańczowego sygnału skutkująca izolowanym zielonym sygnałem kolokalizującym z niebieskim sygnałem jest wynikiem delecji dystalnej do regionu punktu przerwania ROS1 lub z powodu niezrównoważonej translokacji wpływającej na ten region chromosomalny.(patrz Rys. 3).

*Nakładają ce się sygnały mogą być wyświetlane jako z ótte sygnały.*

	Dwupasmowy zielono / pomarańczowy filtr	Jednopasmowy niebieski filtr	Nalóż one obrazy lub trójpasmowy filtr
Normalne komórki			
Rearanżacja ALK			
Rearanżacja ROS1			

**Rys. 3: 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  $\leq 1$   $\times$  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, np. fibroblasty.

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

## 15. Charakterystyka wydajności

**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 wymazów 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 wymazów kariotypów normalnych samców. We wszystkich badanych próbkach sonda hybridyzowała wyłącznie z oczekiwanymi loci i żadnymi innymi loci. Dlatego specyficzność 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.

### Słabe sygnały lub brak sygnałów

Możliwa przyczyna	Działanie
Niedostępna sekwencja docelowa	Zastosuj odpowiednią kontrolę docelową
Próbka nie została odpowiednio utrwalona	Zoptymalizuj czas utrwalania i utrwalacz.
Nieprawidłowa temperatura wstępnej obróbki ciepłej, proteolizy, denaturacji, hybridyzacji, 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 używany jest hybridyzator obowiązkowe jest stosowanie mokrych pasów / napełnionych wodą zbiorników. Gdy stosowana jest ciepłarka wymagane jest użycie komory wilgotnościowej. W dodatku szkiełko nakrywkowe powinno być dokładnie uszczelnione, np. Fixogumem w celu zabezpieczenia przed wyschnięciem podczas hybridyzacji
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.</i> <i>W konsekwencji sygnały mogą wydawać się słabsze przy użyciu tych zestawów filtrów z potrójnym pasmem.</i>
Obraz sondy/fluorochromu nieprawidłowy	Wykonaj etapy hybridyzacji i płukania w ciemności

### Sygnaly krzyżowe hybridyzacji; 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 hybridyzacją	Przenieś szybko szkiełko do temperatury 37°C
Zbyt wysokie stężenie buforu płukającego	Sprawdź stężenie buforu płukającego
Zbyt niska temperatura płukania po hybridyzacji	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

### Zachodzące na siebie jądra komórkowe

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

### Zdegradowana morfologia tkanki

Możliwa przyczyna	Działanie
Próbka nie została odpowiednio utrwalona	Zoptymalizuj czas utrwalania i utrwalacz.
Proteolityczna obróbka wstępna nie została przeprowadzona prawidłowo	Zoptymalizuj czas inkubacji pepsyny, wydłuż lub skróć jeśli to konieczne
Niewystarczające wysuszenie przed aplikacją sondy	Wydłuż suszenie

### 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

- Bergethon K, et al. (2012) *J Clin Oncol* 30: 863-70.
- Birchmeier C, et al. (1987) *Proc Natl Acad Sci* 84: 9270-74.
- Bos M, et al. (2013) *Lung Cancer* 81: 142-3.
- Brockhoff G, et al. (2016) *Histopathology* 69: 635-46.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Koivunen JP, et al. (2008) *Clin Cancer Res* 14: 4275-83.
- Martelli MP, et al. (2009) *Am J Pathol* 174: 661-70.
- Morris SW, et al. (1994) *Science* 263: 1281-4.
- Ou SH, et al. (2012) *Exp Rev Anticancer Ther* 12: 447-56.
- Palmer RH, et al. (2009) *Biochem J* 420: 345-61.
- Sasaki T, et al. (2010) *Eur J Cancer* 46: 1773-80.
- Selinger CI, et al. (2017) *Histopathology* 70: 402-411.
- Shaw AT, et al. (2014) *N Engl J Med* 371: 1963-71.
- 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 [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 F/etSH® to znaki towarowe ZytoVision GmbH.