



ZytoDot 2C CISH Implementation Kit

REF C-3044-10 Σ 10

REF C-3044-40 Σ 40

För användning i kromogena *in situ*-hybridiseringsprocedurer (CISH)

4250380N717V



Medicinteknisk produkt för in vitro diagnostik

i enlighet med IVDR (EU) 2017/746

1. Avsedd användning

ZytoDot 2C CISH Implementation Kit är avsett för användning i kombination med digoxigenin/dinitrofenyl-märkta ZytoDot 2C CISH Probes på formalinfixerade, paraffinbäddade specimen genom kromogen *in situ*-hybridisering (CISH).

Produkten är endast avsedd för professionell användning. Alla tester där produkten används ska genomföras i ett certifierat, licensierat laboratorium av kvalificerad personal under överinseende av en patolog/humangenetiker.

2. Testprincip

Tekniken för kromogen *in situ*-hybridisering (CISH) tillåter detektion och visualisering av specifika nukleinsyrasekvenser i cellberedningar. Hapten-märkta nukleotidfragment, så kallade CISH-prober, och deras komplementära målsekvenser i preparaten samdenatureras och tillåts därefter härda under hybridisering. Efteråt avlägsnas ospecifika och obundna probfragment genom tvättsteg för stringens. Duplexbildning av den märkta proben kan visualiseras med hjälp av primära (omärkta) antikroppar, som detekteras av sekundära polymeriserade enzymkonjugerade antikroppar. Den enzymatiska reaktionen med kromogena substrat leder till bildandet av färgade utfällningar. Efter moffärgning av cellkärnan med ett nukleärt färgämne visualiseras hybridiserade probfragment med ljusmikroskopi.

3. Tillhandahållen reagens

ZytoDot 2C CISH Implementation Kit finns i två storlekar och består av:

Kod	Komponent	Kvantitet		Behållare
		40	10	
PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	500 ml	150 ml	Flaska med skruvlock (stor)
ES1	Pepsin Solution	4 ml	1 ml	Droppflaska, vitt lock
WB1	Wash Buffer SSC	560 ml	210 ml	Flaska med skruvlock (stor)
WB5	20x Wash Buffer TBS	2x 50 ml	50 ml	Flaska med skruvlock
AB14	Anti-DIG/DNP-Mix	4 ml	1 ml	Droppflaska, gult lock
AB13	HRP/AP-Polymer-Mix	4 ml	1 ml	Droppflaska, blått lock
SB6a	AP-Red Solution A	0,4 ml	0,1 ml	Droppflaska, rött lock (liten)
SB6b	AP-Red Solution B	15 ml	4 ml	Droppflaska, rött lock
SB7a	HRP-Green Solution A	0,8 ml	0,2 ml	Droppflaska, grönt lock (liten)
SB7b	HRP-Green Solution B	15 ml	4 ml	Droppflaska, grönt lock
CS2	Nuclear Blue Solution	20 ml	4 ml	Flaska med skruvlock, svart
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	1 ml	Glasflaska, brun
	AP-Red reaktionskärl	2	1	Graderad kopp, rött lock
	HRP-Green reaktionskärl	2	1	Graderad kopp, grönt lock
	Bruksanvisning	1	1	

C-3044-10 (10 tester): Komponenterna **ES1**, **AB14**, **AB13**, **SB6a-b**, **SB7a-b**, **CS2**, och **MT4** räcker till 10 reaktioner. Komponent **PT2** räcker till 2 färgningsburkar på 70 ml vardera. Komponent **WB1** räcker till 3 färgningsburkar på 70 ml vardera. Komponent **WB5** räcker till 14 färgningsburkar på 70 ml vardera.

C-3044-40 (40 tester): Komponenterna **ES1**, **AB14**, **AB13**, **SB6a-b**, **SB7a-b**, **CS2**, och **MT4** räcker till 40 reaktioner. Komponent **PT2** räcker till 7 färgningsburkar på 70 ml vardera. Komponent **WB1** räcker till 8 färgningsburkar på 70 ml vardera. Komponent **WB5** räcker till 28 färgningsburkar på 70 ml vardera.

4. Material som krävs, men inte tillhandahålls

- ZytoDot 2C CISH Probe
- Positiva och negativa kontrollspecimen
- Objektglas för mikroskopering, positivt laddade
- Vattenbad (80 °C, 98 °C)
- Hybridiserare eller varm platta
- Hybridiserare eller fukt-kammare i hybridiseringsugn
- Justerbara pipetter (10 µl, 1000 µl)
- Färgningsburkar eller -bad
- Timer
- Kalibrerad termometer
- Etanol eller reagensalkohol
- Xylen
- Metanol 100 %
- Väteperoxid (H₂O₂) 30 %
- Avjoniserat eller destillerat vatten
- Täckglas (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Gummiment, t.ex. Fixogum Rubber Cement (art. nr E-4005-50/-125) eller dylikt
- Adekvat underhållet ljusmikroskop (400-630x)

5. Förvaring och hantering

Förvaras vid 2-8 °C i upprätt läge. Återgå till förvaringsförhållanden omedelbart efter användning. Använd inte reagens efter det utgångsdatum som anges på etiketten. Produkten är stabil fram till det utgångsdatum som anges på etiketten om den hanteras i enlighet med denna.

6. Varningar och försiktighetsåtgärder

- Läs instruktionerna före användning!
- Använd inte reagenserna efter utgångsdatumet!
- Produkten innehåller ämnen (i låga koncentrationer och volymer) som är hälsovådliga. Undvik varje direktkontakt med reagens. Vidta lämpliga skyddsåtgärder (använd engångshandskar, skyddsglasögon och labbkläder)!
- Rapportera alla allvarliga incidenter som inträffat i samband med produkten till tillverkaren och den behöriga myndigheten enligt lokala bestämmelser!
- Om reagens kommer i kontakt med huden, skölj genast huden med rikliga mängder vatten!
- Ett materialsäkerhetsdatablad finns tillgängligt för den professionella användaren på begäran.
- Återanvänd inte reagens, såvida inte återanvändning uttryckligen tillåts!
- Undvik korskontaminering av prov eftersom detta kan leda till felaktiga resultat.
- Specimen får inte tillåtas torka under hybridiserings- och torkningsstegen.

Faro- och skyddsangivelser för AB13, AB14, PT2, SB7b, WB1 och WB5:

Den farobestämmande komponenten är en reaktionsblandning av: 5-kloro-2-metyl-4-isotiazolin-3-on [EG-nr 247-500-7] och 2-metyl-2H-isotiazol-3-on [EG-nr 220-239-6] (3:1).



Varning

- H317 Kan orsaka en allergisk hudreaktion.
 P261 Undvik att inandas damm/rök/gaser/mist/ångor/sprej.
 P272 Kontaminerade arbetskläder får inte avlägnas från arbetsplatsen.
 P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
 P302+P352 VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten.
 P333+P313 Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp.
 P362+P364 Kontaminerade kläder tas av och tvättas innan de används igen.

Faro- och skyddsangivelser för SB7a:

De farobestämmande komponenterna är metanol och väteperoxidlösning 30 %.



Fara

- H225 Mycket brandfarlig vätska och ånga.
 H301+H311 Giftigt vid förtäring, hudkontakt och vid inandning.
 H370 Kan orsaka organskador.
 P210 Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppen låga eller andra antändningskällor. Rökning förbjuden.
 P233 Behållaren ska vara väl tillsluten.
 P260 Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej.
 P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
 P308+P311 Vid exponering eller misstanke om exponering: Vid exponering eller misstanke om exponering: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
 P403+P235 Förvaras på en väl ventilerad plats. Förvaras svalt.

Faro- och skyddsangivelser för CS2:

Den farobestämmande komponenten är etandiol, etylenglykol.



Varning

- H373 Kan orsaka njurskador genom långvarig eller upprepad exponering genom sväljning.
 P260 Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej.
 P314 Sök läkarhjälp vid obehag.

Faro- och skyddsangivelser för MT4:

Den farobestämmande komponenten är xylen.



Varning

- H226 Brandfarlig vätska och ånga.
 H312+H332 Giftigt vid hudkontakt eller inandning.
 H315 Irriterar huden.
 H319 Orsakar allvarlig ögonirritation.
 H335 Kan orsaka irritation i andningsvägarna.
 H373 Kan orsaka organskador genom långvarig eller upprepad exponering.
 P210 Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppen låga eller andra antändningskällor. Rökning förbjuden.
 P260 Inandas inte damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej.
 P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
 P305+P351+P338 VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.
 P337+P313 Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp.
 P403+P235 Förvaras på en väl ventilerad plats. Förvaras svalt.
 EUH208 Innehåller metyl-2-metylprop-2-enoat; metyl-2-metylpropenoat; metylmetakrylat.
 Kan orsaka en allergisk reaktion.

Faro- och skyddsangivelser för SB6a:

- H412 Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.
 P273 Undvik utsläpp till miljön.

Specialmärkning av ES1:

- EUH208 Innehåller Pepsin A. Kan orsaka en allergisk reaktion.
 EUH210 Säkerhetsdatablad finns tillgängligt på förfrågan.

7. Begränsningar

- För *in vitro* diagnostisk användning.
- Endast för professionell användning.
- Endast för icke-automatiserad användning.
- Den kliniska tolkningen av varje positiv färgning, eller dess frånvaro, måste göras inom ramen för klinisk historia, morfologi, andra histopatologiska kriterier samt andra diagnostiska tester. Det är en kvalificerad patolog/humangenetikers ansvar att vara förtrogen med ISH-proberna, reagensen, diagnostikpanelerna och metoderna som används för att framställa det färgade preparatet. Färgning måste utföras i ett certifierat, licensierat laboratorium under överinseende av en patolog/humangenetiker som ansvarar för att granska de färgade objektglasen och säkerställa att positiva och negativa kontroller är tillräckliga.



- Specimenfärgning, särskilt signalintensitet och bakgrundsfärgning, är beroende av hantering och bearbetning av specimen före färgning. Felaktig fixering, frysning, upptining, tvättning, torkning, uppvärmning, snittning eller kontaminering med andra specimen eller vätskor kan resultera i artefakter eller falska resultat. Inkonsekventa resultat kan orsakas av variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder, såväl som från inneboende oregelbundenheter i specimen.
- Prestandan validerades med de procedurer som beskrivs i respektive ZytoVision-probs och -implementeringskits bruksanvisning. Ändringar av dessa procedurer kan förändra effekten, och måste valideras av användaren. Denna IVD är endast certifierad som CE när den används enligt beskrivningen i denna bruksanvisning för användning inom ramen för den avsedda användningen.

8. Störande ämnen

Följande fixativ är inkompatibla med ISH:

- Bouins fixativ
- B5-fixativ
- Sura fixativ (t.ex. pikrinsyra)
- Zenkers fixativ
- Alkoholer (vid användning ensamt)
- Kvicksilverklorid
- Formaldehyd/zinkfixativ
- Hollandes fixativ
- Obuffrad formalin

9. Förberedelse av specimen

Rekommendationer:

- Undvik korskontaminering av prov i något steg av förberedelsen, eftersom detta kan leda till felaktiga resultat.
- Fixation i 10 % neutralt buffrad formalin i 24 h vid rumstemperatur (18-25 °C).
- Provstorlek $\leq 0,5 \text{ cm}^3$.
- Använd paraffin av premiumkvalitet.
- Inbäddning ska utföras vid temperaturer under 65 °C.
- Förbered 3-5 μm mikrotomsnitt.
- Använd positivt laddade objektglas för mikroskopering.
- Fixera vävnadssnitt i 2-16 h vid 50-60 °C.

10. Förbehandling av enheten

20x Wash Buffer TBS (WB5) ska förberedas enligt instruktionerna i 11. "Provförfarande". Alla andra satsreagenser är klara att använda. Det krävs ingen rekonstitution, blandning eller spädning. Värm proben till rumstemperatur (RT) före användning och mixa snabbt före användning.

11. Provförfarande

11.1 Dag 1

Förberedande steg

1. Förbered en etanolserie (70 %, 90 % och 100 % etanollösningar): Späd 100 % etanol med avjoniserat eller destillerat vatten. Lösningarna kan förvaras i lämpliga behållare och återanvändas.
2. Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2): Värm till 98 °C i en täckt färgningsburk.
3. Förberedelse av 3 % H₂O₂: Späd 1 del 30 % H₂O₂ i 9 delar 100 % metanol.
4. ZytoDot 2C CISH Probe: Försätt i rumstemperatur före användning.

Förbehandling (avväxning/proteolys)

1. Placera objektglaset i 10 min vid 70 °C (t.ex. på en varm platta).
2. Inkubera objektglaset i 2x 5 minuter i xylen.
3. Inkubera objektglaset i 3x 3 minuter i 100 % etanol.
4. Inkubera objektglaset i 5 min i 3 % H₂O₂.
5. Tvätta objektglaset 2x 1 min i avjoniserat eller destillerat vatten.
6. Inkubera i 15 minuter i förvärmad Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2) vid 98 °C.

Använd åtta objektglas per färgningsburk (lägg till dummy-objektglas vid behov).

7. Överför objektglaset omedelbart till avjoniserat eller destillerat vatten och tvätta i 2x 2 minuter.

8. Applicera (droppvis) Pepsin Solution (ES1) till provet och inkubera i 5-15 minuter vid 37 °C i en fukt-kammare.

ES1 kan bilda fällningar som inte påverkar kvaliteten.

Som en allmän regel rekommenderar vi att fastställa den optimala tiden för proteolys i förtester.

9. Doppa objektglaset i avjoniserat eller destillerat vatten.
10. Dehydrering i: 70 %, 90 %, och 100 % etanol, i 1 min vardera.
11. Lufttorka snitten.

Notera: Se till att snitten är helt torra innan proben appliceras.

Denaturering och hybridisering

1. Pipettera 10 μl av proben på varje förbehandlat specimen.
2. Täck specimen med ett täckglas på 22 mm x 22 mm (undvik fångade bubblor) och tillslut täckglaset.

Vi rekommenderar att gummiment (t.ex. Fixogum) används för tillslutningen.

3. Placera objektglaset på en varm platta eller hybridiserare och denaturera specimen i 5 min vid 79 °C.
4. Överför objektglaset till en fukt-kammare och hybridisera över natten vid 37 °C (t.ex. i en hybridiseringsugn).

Det är viktigt att specimen inte torkar ut under hybridiseringssteget.

11.2 Dag 2

Förberedande steg

1. Wash Buffer SSC (WB1): För stringensvätt, värm till 80 °C i en täckt färgningsburk. **WB1** kan bilda fällningar vid 2-8 °C, som inte påverkar kvaliteten och som ska lösas upp vid upphettning.
2. Förberedelse av 1x Wash Buffer TBS: Späd 1 del 20x Wash Buffer **TBS (WB5)** i 19 delar avjoniserat eller destillerat vatten.

Spätt 1x Wash Buffer TBS är stabilt i en vecka vid förvaring vid 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): Försätt i rumstemperatur före användning.

*Komponenterna **SB7a** och **SB7b** kan bilda fällningar som inte påverkar färgningskvaliteten.*

Efterhybridisering och detektion

1. Ta försiktigt bort gummimentet eller limmet.
2. Ta bort täckglaset genom att sänka ned objektglaset i Wash Buffer SSC (WB1) vid rumstemperatur i 5 min.

WB1 kan återanvändas en gång. Förvaras vid 2-8 °C i högst en vecka.

3. Tvätta objektglaset 5 min i Wash Buffer SSC (WB1) i 80 °C.

Använd åtta objektglas per färgningsburk (lägg till dummy-objektglas vid behov).

4. Tvätta objektglaset 2x 1 min i avjoniserat eller destillerat vatten.
5. Doppa objektglaset i 1x Wash Buffer TBS.
6. Applicera Anti-DIG/DNP-Mix (AB14) (1-2 droppar per objektglas) till objektglaset och inkubera i 15 minuter vid 37 °C i en fukt-kammare.
7. Tvätta objektglaset 3x 1 min i 1x Wash Buffer TBS.
8. Applicera HRP/AP-Polymer-Mix (AB13) (1-2 droppar per objektglas) till objektglaset och inkubera i 15 minuter vid 37 °C i en fukt-kammare.
9. Tvätta objektglaset 3x 1 min i 1x Wash Buffer TBS.
10. Förbered AP-Red Solution (arbetslösning): fyll i 1 ml AP-Red Solution B (**SB6b**) i en graderad kopp och tillsätt en droppe (30 μl) AP-Red Solution A (**SB6a**). Blanda ordentligt.
11. Applicera AP-Red Solution (1-2 droppar per objektglas) på objektglaset och inkubera i mörker i 10 minuter vid RT.
12. Under inkuberingen, förbered HRP-Green Solution (arbetslösning): fyll i 1 ml HRP-Green Solution B (SB7b) i en graderad kopp och tillsätt två droppar (2x 20 μl) HRP-Green Solution A (SB7a). Blanda ordentligt.
13. Tvätta objektglaset i 2 minuter i avjoniserat eller destillerat vatten.
14. Applicera HRP-Green Solution droppvis (1-2 droppar per objektglas) på objektglaset och inkubera i mörker i 10 minuter vid rumstemperatur.
15. Tvätta objektglaset i 2 minuter i avjoniserat eller destillerat vatten.
16. Motfärga specimen i 2 min med Nuclear Blue Solution (CS2).
17. Överför objektglaset i en färgningsburk och tvätta 2 minuter under kallt rinnande kranvatten.
18. Dehydrera 3x 30 s i 100 % etanol (använd mycket ren etanol).
19. Inkubera objektglas i 2x 30 s i xylen (använd mycket ren xylen).



Förläng eller förkorta inte inkubationstiden eftersom detta kan leda till förlust av signaler!

20. Undvik instängda bubblor, täck proven med ett täckglas (22 mm x 22 mm; 24 mm x 32 mm) genom användning av Mounting Solution (alcoholic) (MT4). Lägg 20-30 min så att täckglaset immobiliseras.

Användning av en pipettspets som skurits av för att öka storleken på öppningen kan förenkla pipetteringsprocessen.

21. Utvärdera färgade prover med ljusmikroskopi.

12. Tolkning av resultaten

Vid användning av ZytoDot 2C CISH Implementation Kit, visas hybridiseringssignaler för Digoxigenin-märkta polynukleotider som mörkgröna distinkta punkter, och dinitrofenyl-märkta polynukleotider visas som klarröda distinkta punkter. I interfaser eller metafaser av normala celler eller celler utan avvikelser i de undersökta kromosomerna, kommer två signaler per prob/hapten-märkning att synas förutom prover som är inriktade på X- och/eller Y-kromosomer, vilket resulterar i ingen till två signaler per prob/hapten-märkning, beroende på kön. I celler med kromosomavvikelser kan ett annat signalmönster vara synligt i interfaser eller metafaser. För mer information om tolkning av resultat, se bruksanvisningen för respektive ZytoDot 2C CISH Probe.

13. Rekommenderade procedurer för kvalitetskontroll

Se bruksanvisningen för respektive ZytoVision-prob.

14. Prestandaegenskaper

Se bruksanvisningen för respektive ZytoVision-prob.

15. Kassering

Reagensen måste avfallshanteras enligt lokala bestämmelser.

16. Felsökning

Eventuella avvikelser från instruktionerna för användning kan leda till osäkra färgningsresultat eller till att färgningen uteblir helt. Se www.zytovision.com för mer information.

Svaga signaler eller inga signaler alls

Möjlig orsak	Åtgärd
Proteolytisk förbehandling inte utförd ordentligt	Optimera inkubationstiden för pepsin, öka eller minska den efter behov
Provavdunstning	Vid användning av en hybridiserare är det obligatoriskt att använda de våta remsorna/vattenfyllda tankarna. Vid användning av en hybridiseringsugn krävs användning av en fukt-kammare. Dessutom bör täckglaset förslutas helt, t.ex. med Fixogum, för att förhindra att provet torkar ut under hybridisering
Motfärgningstiden är för lång	Undvik mörk motfärgning, eftersom det kan skymma positiva färgningssignaler
Blåning av motfärgning inte korrekt utförd	Använd kallt rinnande kranvatten för blåning; använd inte varmt eller hett vatten eller blånande reagenser

Signaler för starka

Möjlig orsak	Åtgärd
Proteolytisk förbehandling utförd för länge	Optimera inkubationstiden för pepsin, öka eller minska den efter behov
Inkubationstiden för AP-röd lösning är inte korrekt	Inkubationstiden kan förkortas ned till 5 min. vid behov. Värm inte substratlösningen över 25 °C; inkubera endast vid rumstemperatur

Inkubationstiden för HRP-grön lösning är inte korrekt	Inkubationstiden kan förkortas ned till 7 min. vid behov. Värm inte substratlösningen över 25 °C; inkubera endast vid rumstemperatur
---	--

Röda signaler för svaga

Möjlig orsak	Åtgärd
AP-röd lösning exponerades för starkt direkt ljus	Förbered och använd AP-röd lösning skyddat från starkt direkt ljus
AP-röd lösning förbereddes för tidigt	Förbered före omedelbar användning
Inkubationstiden för AP-röd lösning är inte korrekt	Vid behov kan inkubationstiden utökas till 15 min
Otillräcklig förberedelse av kromogent substrat	Öka inte volymen av lösning A

Gröna signaler för svaga

Möjlig orsak	Åtgärd
Inkubationstid för eventuella tvättsteg efter färgning med HRP-grön för lång	Överskrid inte givna inkubationstider
Inkubationstiden för HRP-grön lösning är inte korrekt	Vid behov kan inkubationstiden utökas till 15 min
Otillräcklig förberedelse av kromogent substrat	Öka inte volymen av lösning A

Signaler bleknar eller smälter samman

Möjlig orsak	Åtgärd
En olämplig monteringslösning har använts	Använd endast monteringslösningen som medföljer kitet eller xylenebaserade monteringslösningar som är fria från föroreningar; använd inte täckglastejp
Snitt torkades inte ut ordentligt	Använd färsk etanol- och xylenebaserade lösningar; använd endast xylene av "ren" kvalitet

Ojämn eller i vissa delar endast mycket lätt färgning

Möjlig orsak	Åtgärd
Ofullständig avväxning	Använd färsk lösningar; kontrollera avväxningens varaktigheter
Reagensvolym för liten	Säkerställ att reagensvolymen är tillräckligt stor för att täcka vävnadsytan

Inkonsekventa resultat

Möjlig orsak	Åtgärd
Otillräcklig torkning före probapplicering	Förläng lufttorkningen
För mycket vatten/tvättbuffert på vävnaden innan applicering av pepsin, antikroppar och/eller färgsubstrat	Säkerställ att överflödigt vätska avlägsnas från vävnadssnittet genom att torka eller skaka av den från objektglaset. Små mängder kvarvarande vatten/tvättbuffert stör inte testet
Variationer i vävnadsfixations- och inbäddningsmetoder	Optimera fixations- och inbäddningsmetoder
Variationer i vävnadssnittstjockleken	Optimera snittningen

Morfologi degraderad

Möjlig orsak	Åtgärd
Cell- eller vävnadsprov har inte fixerats ordentligt	Optimera fixeringstid och fixativ
Proteolytisk förbehandling ej utförd för länge	Minska inkubationstiden för pepsin

Korshybridiserings signaler; ojämn bakgrund

Möjlig orsak	Åtgärd
Snitten torkade ut när som helst under eller efter hybridisering	Undvik att snitt torkar ut; använd fukt-kammare; tillslut täckglaset ordentligt
Förlängd inkubationstid för substrat	Förkorta inkubationstiden för substrat
Ofullständig avväxning	Använd färsk lösning; kontrollera avväxningens varaktighet
Proteolytisk förbehandling för stark	Optimera inkubationstiden för pepsin
Objektglaset kylas till rumstemperatur före hybridisering	Överför objektglaset snabbt till hybridiseringstemperatur

Överlappande signaler

Möjlig orsak	Åtgärd
Olämplig tjocklek på vävnadssnitt	Förbered 3-5 μm mikrotomsnitt

Specimen flyter av objektglaset

Möjlig orsak	Åtgärd
Proteolytisk förbehandling för stark	Korta av inkubationstiden för 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. Revision

www.zytovision.com

Se www.zytovision.com för den senaste bruksanvisningen samt för bruksanvisningar på olika språk.

Våra experter finns där för att svara på dina frågor.
Kontakta helptech@zytovision.com



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/Tyskland
Telefonnummer: +49 471 4832-300
Faxnummer: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
E-postadress: info@zytovision.com

Varumärken:

ZytoVision® och ZytoDot® är varumärken som tillhör ZytoVision GmbH.