



**ZytoDot SPEC HER2 Probe**  
0,4 ml

Zum Nachweis des humanen **HER2-Gens** durch  
Chromogene *in situ* Hybridisierung (CISH)

Für den Gebrauch als In Vitro Diagnostikum

Produkt Nr.: **C-3001**

Herstellung: **ZytoVision GmbH**, Fischkai 1, D-27572 Bremerhaven  
Telefon: +49 (0) 471-4832 300  
Telefax: +49 (0) 471-4832 509  
info@zytovision.com, <http://www.zytovision.com>

Digoxigenin-markierte Polynukleotid-Sonde für den Nachweis des humanen **HER2-Gens** mittels CISH, gebrauchsfertig

**Produktbeschreibung**

**Zusammensetzung:** 0,4 ml (25 Anwendungen à 15 µl) *ZytoDot SPEC HER2 Probe* in Hybridisierungspuffer. Die Sonde besteht aus Digoxigenin-markierten Polynukleotiden, die gegen Sequenzen des **HER2-Gens** gerichtet sind.

**Produkt Nr.:** C-3001 (*ZytoDot SPEC HER2 Probe*)

**Spezifität:** Die *ZytoDot SPEC HER2 Probe* ist für den Nachweis des humanen **HER2-Gens** in formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebe- oder Zellproben mittels CISH bestimmt.

**Lagerung/Stabilität:** Die *ZytoDot SPEC HER2 Probe* muss bei -20°C gelagert werden (kurzfristig auch bei 4°C) und ist bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil.

**Verwendung:** Für den Gebrauch als In Vitro Diagnostikum bestimmt. Die Interpretation der Ergebnisse muss im Kontext der klinischen Anamnese unter Einbeziehung weiterer klinischer und pathologischer Daten des Patienten durch einen qualifizierten Pathologen erfolgen!

**Sicherheitshinweise:** Arbeitsanleitung vor Durchführung der Anwendung lesen!

Reagenzien nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwenden!

Dieses Produkt enthält Formamid und Kathon in geringen Konzentrationen und Volumina. Der direkte Kontakt muss vermieden werden. Entsprechende Schutzmaßnahmen sind zu treffen (Benutzung von Einmalhandschuhen, Schutzbrille und Laborbekleidung). Es gelten folgende R- und S-Sätze: R61 Kann das Kind im Mutterleib

schädigen. S53 Exposition vermeiden - vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen. S45 Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt hinzuziehen (wenn möglich, das Etikett vorzeigen)!

Bei Kontakt mit dem Reagenz müssen die betroffenen Stellen sofort mit viel Wasser abgespült werden!

Das Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage für den berufsmäßigen Verwender erhältlich!

### Prinzip der Methode:

Das Vorkommen bestimmter Nukleinsäuresequenzen in Zellen oder Geweben kann mit Hilfe markierter DNA-Sonden durch *in situ* Hybridisierung nachgewiesen werden. Die Hybridisierung führt zur Duplexbildung zwischen im Untersuchungsgegenstand vorliegenden Sequenzen und der entsprechenden markierten DNA-Sonde.

Die Duplexbildung der Digoxigenin-markierten DNA-Sonde (mit Sequenzen von **HER2** im Untersuchungsmaterial) wird über einen primären (nicht markierten) Anti-Digoxigenin Antikörper, der von einem sekundären polymerisierten Enzym-konjugierten Antikörper detektiert wird, nachgewiesen. Die enzymatische Umsetzung eines chromogenen Substrates führt zur Bildung eines lichtmikroskopisch erkennbaren Farb-Präzipitats.

### Arbeitsanleitung:

Die Vorbehandlungen des Untersuchungsmaterials (Deparaffinierung, Proteolyse, Postfixierung) unterliegen der Vorgabe des Anwenders.

Denaturierung und Hybridisierung der Sonde:

**1.** Die **ZytoDot SPEC HER2 Probe** vortexen und 15 µl auf das Untersuchungsmaterial pipettieren

*Sonde tropfenweise auf der gesamten Zielfläche verteilen, um eine lokale Konzentration der Sonde zu vermeiden. Alternativ Sonde in die Mitte des Deckgläschen geben, Deckglas umdrehen und auf Schnitt legen.*

**2.** Die Schnitte mit einem Deckglas (22 x 22 mm) luftblasenfrei abdecken und mit Rubber Cement (Fixogum) versiegeln

**3.** Die Objektträger (z.B. auf einer Wärmeplatte) 5 min bei 94°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ) denaturieren

**4.** Die Objektträger in eine feuchte Kammer überführen und über Nacht bei 37°C (z.B. in einem Wärmeschrank) inkubieren

*Die Gewebe-/Zellschnitte dürfen während der Hybridisierung nicht austrocknen.*

Weitere Prozessierungsschritte (z.B. Waschen, Detektion und Gegenfärbung) richten sich nach den Vorgaben des Anwenders. Für eine anwenderfreundliche Durchführung empfehlen wir die Verwendung eines [ZytoDot](#) CISH Systems (ZytoVision). Diese Systeme wurden auch für den Nachweis der Eignung der [ZytoDot SPEC HER2 Probe](#) herangezogen.

### **Ergebnis:**

Um die Spezifität der erhaltenen Hybridisierungssignale beurteilen zu können, sollten bei jedem Testdurchgang Kontrollen mitgeführt werden. In normalen Zellen bzw. Zellen ohne Veränderungen von [Chromosom 17](#) erscheinen im Interphasezellkern zwei [HER2-Gen](#)-spezifische punktförmige Signale, die sich deutlich vom Hintergrund unterscheiden. In Zellen mit Amplifikation des [HER2-Gens](#) sind in der Interphase abweichende [HER2](#)-Signalmuster oder -cluster, d.h. vielfache Kopien der [HER2-Gen](#)-Signale, zu erkennen.

**Ihre Fragen beantworten unsere Experten gerne.**

### **Literatur:**

Coussens L, et al. (1985) Science 230: 1132-9.

### **Warenzeichen:**

ZytoVision<sup>®</sup> ist ein Warenzeichen der ZytoVision GmbH.

*Stand 29. November 2005 (1.2)*

### **ZytoVision GmbH**

Fischkai 1

D-27572 Bremerhaven

Telefon: +49 (0) 471-4832 300

Telefax: +49 (0) 471-4832 509

info@zytovision.com

http://www.zytovision.com