



ZytoDot CEN 8 Probe

0,4 ml

Zum Nachweis der humanen alpha-Satelliten von Chromosom 8
durch chromogene *in situ* Hybridisierung (CISH)

Für den Gebrauch als In-vitro-Diagnostikum

Produkt Nr.: C-3016

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

**Digoxigenin-markierte Polynukleotid-Sonde für den Nachweis der
humanen alpha-Satelliten des Zentromers von Chromosom 8,
gebrauchsfertig**

Produktbeschreibung

Zusammensetzung: 0,4 ml (25 Anwendungen à 15 µl) ZytoDot CEN 8 Probe in Hybridisierungspuffer. Die Sonde besteht aus Digoxigenin-markierten Polynukleotiden, die gegen alpha-Satelliten-Sequenzen des Zentromers von Chromosom 8 gerichtet sind.

Produkt Nr.: C-3016 (ZytoDot CEN 8 Probe)

Spezifität: Die ZytoDot CEN 8 Probe ist für den Nachweis der alpha-Satelliten von Chromosom 8 in formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebe- oder Zellproben mittels CISH bestimmt.

Lagerung/Stabilität: Die ZytoDot CEN 8 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 der alpha-Satelliten von Chromosom 8 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 (Entparaffinierung, Proteolyse, Postfixierung) unterliegen der Vorgabe des Anwenders.

Denaturierung und Hybridisierung der Sonde:

1. Die ZytoDot CEN 8 Probe vortexen und 15 µl auf das Untersuchungsmaterial pipettieren

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

- 2.** Die Schnitte mit einem Deckglas (22 mm 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 CEN 8 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 8 erscheinen im Interphasezellkern zwei Chromosom-8-spezifische punktförmige Signale, die sich deutlich vom Hintergrund unterscheiden. In Zellen mit Aneuploidie von Chromosom 8 sind in der Interphase abweichende Signalmuster oder -cluster zu erkennen.

Ihre Fragen beantworten unsere Experten gerne.

Literatur

Waye JS and Willard HF (1987) *Nucleic Acids Res* **15**: 7549-69.

Tsukamoto T, et al. (1991) *Int J Dev Biol* **35**: 25-32.

Warenzeichen:

ZytoVision® und ZytoDot® sind Warenzeichen der ZytoVision GmbH.

Stand: 15. Februar 2007 (1.0)