



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

Détection du **gène EGFR** par  
hybridation *in situ* à révélation chromogénique (CISH)

Pour une utilisation comme méthode diagnostique *in vitro*

Produit No.: **C-3007**

Fabricant: **ZytoVision GmbH**, Fischkai 1, D-27572 Bremerhaven

Téléphone: +49 (0) 471-4832 300

Télécopie: +49 (0) 471-4832 509

info@zytovision.com, <http://www.zytovision.com>

Une sonde en polynucléotides marquées à la digoxigénine pour la détection du **gène humain EGFR** par CISH, prête à l'emploi

## Description du produit

**Contenu:** 0,4 ml (25 réactions à 15  $\mu$ l) **ZytoDot SPEC EGFR Probe** avec son tampon d'hybridation. La sonde est constituée de polynucléotides marqués à la digoxigénine, dirigée contre les séquences du **gène EGFR**.

**Produit No.:** C-3007 (**ZytoDot SPEC EGFR Probe**)

**Spécificité:** Le **ZytoDot SPEC EGFR Probe** est conçu pour la détection du **gène humain EGFR** dans des échantillons de tissu ou de cellules fixés à la formaline et inclus en paraffine par CISH.

**Stockage/Durabilité:** Le **ZytoDot SPEC EGFR Probe** doit être stocké dans l'obscurité à -20°C pour se conserver jusqu'à la date d'échéance imprimée sur l'étiquette (un stockage à court terme à +4°C est également possible).

**Application:** Pour une utilisation comme méthode diagnostique in vitro. L'interprétation des résultats doit être faite dans le contexte de l'anamnèse clinique du patient avec la prise en considération d'autres données pathologiques du patient par un pathologiste qualifié!

**Notes de sécurité:** Lisez les instructions avant de commencer les manipulations!

N'utilisez plus les réactifs au-delà de la date d'expiration!

Ce produit contient, en faibles concentrations et volumes de la formamide et du kathon. Evitez absolument le contact direct avec la peau. Prenez des mesures de protection appropriées (utilisation des gants jetables, lunettes protectrices et vêtements de laboratoire). Les phrases R et S

suivantes s'appliquent: R61 Risque pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant. S53 Eviter l'exposition - Se procurer des instructions spéciales avant l'utilisation. S45 En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette)!

En cas de contact direct avec la peau, rincez immédiatement avec de grandes quantités d'eau!

La fiche de données de sécurité est disponible sur demande!

### Principe de la méthode:

La présence de certaines séquences d'acide nucléique dans des cellules ou de tissu peut être détectée par hybridation *in situ* en utilisant des sondes ADN marquées. L'hybridation mène à une formation de duplex entre les séquences existantes dans l'objet d'essai et la sonde ADN correspondante.

La formation du complexe de la sonde couplée digoxygénine avec la séquence complémentaire du gène **EGFR** présents dans le tissu peut être visualisée à l'aide d'un anticorps primaire anti-digoxygénine qui est lui-même détecté par un autre anticorps conjugué à un polymère d'enzyme. La transformation enzymatique des substrats chromogènes entraîne la formation d'un précipité coloré identifiable par microscopie optique.

### Instruction de travail:

Les préparations des substances à examiner (déparaffinage, protéolyse, post-fixation) sont faites selon les besoins de l'utilisateur.

Dénaturation et hybridation de la sonde:

**1.** Vortexez le **ZytoDot SPEC EGFR Probe** et pipettez 15 µl sur l'échantillon.

*Distribuez goutte-à-goutte sur une vaste superficie de la cible pour éviter une concentration locale de la sonde. Comme alternative, placer la sonde dans le centre d'une lamelle, renverser la lamelle et la placer sur l'échantillon.*

**2.** Ensuite couvrez les échantillons par une lamelle couvre-objets (22 mm x 22 mm) et les collez par de rubber cement (Fixogum)

**3.** Dénaturez les lames porte-objets (p.ex. sur une plaque chauffante) pendant 5 min. à 94°C (±2°C)

**4.** Mettez les lames porte-objets dans une chambre humide et les incubez pendant la nuit à 37°C

*Les échantillons de tissu et de cellules ne doivent pas se dessécher pendant les étapes d'hybridation.*

D'autres étapes du processus (ex. lavage, détection et contre-coloration) sont faites selon les besoins de l'utilisateur. Pour une réalisation facile, nous recommandons l'utilisation du [ZytoDot](#) système CISH (ZytoVision). Ces systèmes ont été également utilisés pour confirmer l'aptitude de la sonde [ZytoDot SPEC EGFR Probe](#).

### **Résultat:**

Afin d'évaluer la spécificité des signaux d'hybridation obtenus, des contrôles devront être effectués en même temps que chacun des tests. Dans un noyau en interphase, les cellules normales et les cellules sans aberrations du [chromosome 7](#) deux signaux ponctuels spécifiques pour le [gène EGFR](#) apparaissent, qui se distinguent clairement du fond. Dans les cellules présentant une amplification du [gène EGFR](#), de nombreuses copies de signaux du [gène EGFR](#) présentent.

**Nous sommes à votre disponibilité pour répondre à vos questions.**

### **Littérature:**

Bhargava R et al. (2005) Am J Clin Pathol 123: 237-43.

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

Kondo I and Shimizu N (1983) Cytogenet Cell Genet 35: 9-14.

### **Marques déposées:**

ZytoVision<sup>®</sup> est une marque déposée de ZytoVision GmbH.

*Version 29 novembre 2005 (1.1)*

### **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