



ZytoLight
CEN 9 Probe

0,2 ml

Zum Nachweis der humanen Satelliten-III-Region von
Chromosom 9 durch Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH)

FOR RESEARCH USE ONLY

Produkt Nr.: Z-2067

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>

**Fluoreszenzmarkierte Polynukleotid-Sonde für den Nachweis der
humanen Satelliten-III-Region von Chromosom 9,
gebrauchsfertig**

Produktbeschreibung

- Zusammensetzung:** 0,2 ml (20 Anwendungen) CEN 9 Probe in Hybridisierungspuffer. Die Sonde besteht aus orange-markierten Polynukleotiden (ZyOrange: Absorption bei 547 nm und Emission bei 572 nm, ähnlich Rhodamin), die gegen Sequenzen der Satelliten-III-Region von Chromosom 9 gerichtet sind.
- Produkt Nr.:** Z-2067 (CEN 9 Probe)
- Spezifität:** Die CEN 9 Probe ist für den Nachweis der Satelliten-III-Region des Chromosom 9 in formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebe- oder Zellproben mittels FISH bestimmt.
- Lagerung/Stabilität:** Die CEN 9 Probe muss bei -20°C dunkel gelagert werden (kurzfristig auch bei 4°C) und ist bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil.
- Verwendung:** Nur für Forschungszwecke und nicht für den Gebrauch in diagnostischen Anwendungen bestimmt!
- Sicherheitshinweise:** Arbeitsanleitung vor Durchführung der Anwendung lesen!
- Reagenzien nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr benutzen!
- 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!

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 DNA-Sonde.

Die Duplexbildung (mit Sequenzen der Satelliten-III-Region des Chromosom 9 im Untersuchungsmaterial) wird direkt über die Fluoreszenz-Markierung der Polynukleotide nachgewiesen.

Arbeitsanleitung

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

Denaturierung und Hybridisierung der Sonde:

1. Je 10 μ l CEN 9 Probe auf verschiedene Schnitte des Untersuchungsmaterials pipettieren

Das unmittelbare leichte Erwärmen sowie der Einsatz einer abgeschnittenen Pipettenspitze erleichtern gegebenenfalls das Pipettieren der Sonde. Eine längere Lichteinstrahlung sollte vermieden werden.

2. Die Schnitte mit einem Deckglas (22 mm x 22 mm) luftblasenfrei abdecken und versiegeln (z. B. Deckglasränder mit einer Schicht Heißkleber mit Hilfe einer Klebepistole oder mit Rubber Cement abdichten)

3. Die Objektträger z. B. auf einer Wärmeplatte für 10 min bei 75°C ($\pm 2^\circ$ C) Hitze denaturieren

Abhängig von Alter und Fixierung der Schnitte kann für die Erreichung optimaler Hybridisierungsergebnisse eine Anpassung der Denaturierungstemperatur (73°C-77°C) erforderlich sein.

4. Die Objektträger in eine feuchte Kammer überführen und zur Hybridisierung 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, Gegenfärbung) richten sich nach den Vorgaben des Anwenders. Für eine anwenderfreundliche Durchführung empfehlen wir die Verwendung eines *ZytoLight*-FISH-Systems (*ZytoVision*). Diese Systeme wurden auch für den Nachweis der Eignung der CEN 9 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 9 erscheinen im Interphasezellkern zwei Chromosom-9-spezifische orange Signale. In Zellen mit Aneuploidie von Chromosom 9 sind in der Interphase abweichende Signalmuster oder -cluster zu erkennen.

Ihre Fragen beantworten unsere Experten gerne.

Literatur

Moyzis RK et al (1987) *Chromosoma* **95**: 375-86.

Sauter G et al (1995) *Int J Cancer* **64**: 99-103.

Warenzeichen:

ZytoVision® und *ZytoLight*® sind Warenzeichen der *ZytoVision GmbH*.

Stand: 23. April 2007 (1.0)