ZytoDot 2C
Glioma 1p/19q Probe Set

REF	C-3076-10	Σ	10
REF	C-3076-40	Σ	40

Für den qualitativen Nachweis von Deletionen der humanen chromosomalen Region 1p36.31 sowie von Deletionen der humanen chromosomalen Region 19q13.32-q13.33 mittels chromogener *in-situ*-Hybridisierung (CISH)

4250380N9183

CE 0483

IVD

In-vitro-Diagnostikum

gemäß IVDR (EU) 2017/746

1. Verwendungszweck

Die ZytoDot 2C Glioma 1p/19q Probe Set ist für den qualitativen Nachweis von Deletionen in der humanen chromosomalen Region 1p36.31 sowie von Deletionen in der humanen chromosomalen Region 19q13.32-q13.33 in Formalin-fixierten, Paraffin-eingebetteten Geweben, wie z. B. Gliomen, durch chromogene *in-situ*-Hybridisierung (CISH) bestimmt. Die Sonde ist für die Verwendung in Kombination mit dem ZytoDot 2C CISH Implementation Kit (Prod. Nr. C-3044-10/-40) vorgesehen.

Das Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt. Alle Tests, bei denen das Produkt verwendet wird, sollten in einem zertifizierten, zugelassenen anatomisch-pathologischen Labor unter der Aufsicht eines Pathologen/Humangenetikers von qualifiziertem Personal durchgeführt werden.

Die Sonde ist als Hilfsmittel für die Differentialdiagnose von Gliomen vorgesehen, und therapeutische Maßnahmen sollten nicht allein auf der Grundlage des Testergebnisses eingeleitet werden.

2. Prinzip der Methode

Die chromogene *in-situ*-Hybridisierung (CISH) erlaubt den Nachweis und die Visualisierung von spezifischen Nukleinsäuresequenzen in Zellpräparationen. Haptenmarkierte Nukleotid-Fragmente, sogenannte CISH-Sonden, und deren komplementäre Zielsequenzen in den Präparationen werden co-denaturiert und können anschließend während der Hybridisierung binden. Danach werden unspezifische und ungebundene Sondenfragmente durch Stringenzwaschschritte entfernt. Die Duplex-Bildung der markierten Sonde wird mittels primärer (nicht markierter) Antikörper sichtbar gemacht, welche von sekundären polymerisierten Enzym-konjugierten Antikörpern detektiert werden. Die enzymatische Reaktion mit den chromogenen Substraten führt zur Bildung von Farbpräzipitaten. Nach der Gegenfärbung des Zellkerns mit einer Zellkern-Färbung können die hybridisierten Sondenfragmente mit einem Lichtmikroskop visualisiert werden.

3. Enthaltene Reagenzien

Das ZytoDot 2C Glioma 1p/19q Probe Set ist ein Set bestehend aus zwei einzelnen Sonden:

- ZytoDot 2C SPEC 1p36/1q25 Probe (Prod. Nr. C-3036-100/-400)
- ZytoDot 2C SPEC 19q13/19p13 Probe (Prod. Nr. C-3037-100/-400)

Die ZytoDot 2C SPEC 1p36/1q25 Probe (**PD21**) besteht aus:

- Digoxigenin-markierten Polynukleotiden (~1.7 ng/µl), die gegen Sequenzen in 1q25.3* (chr1:184,562,510-184,752,938) gerichtet sind (siehe Abb. 1).
- Dinitrophenyl-markierten Polynukleotiden (~1.7 ng/µl), die gegen Sequenzen in 1p36.31* (chr1:5,808,946-6,176,336) gerichtet sind (siehe Abb. 1).
- Hybridisierungsbuffer auf Basis von Formamid

*nach Human Genome Assembly GRCh37/hg19

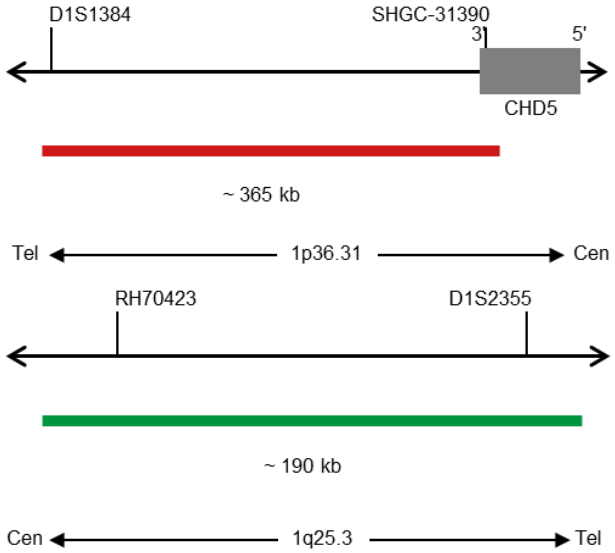

Abb. 1: Oben: SPEC 1p36 Sondenlokalisation; Unten: SPEC 1q25 Sondenlokalisation (nicht maßstabsgetreu)

Die ZytoDot 2C SPEC 19q13/19p13 Probe (**PD22**) besteht aus:

- Digoxigenin-markierten Polynukleotiden (~1.7 ng/µl), die gegen Sequenzen in 19p13.3* (chr19:815,938-962,244) gerichtet sind (siehe Abb. 2).
- Dinitrophenyl-markierten Polynukleotiden (~1.7 ng/µl), die gegen Sequenzen in 19q13.32-q13.33* (chr19:47,857,776-48,339,398) gerichtet sind (siehe Abb. 2).
- Hybridisierungsbuffer auf Basis von Formamid

*nach Human Genome Assembly GRCh37/hg19

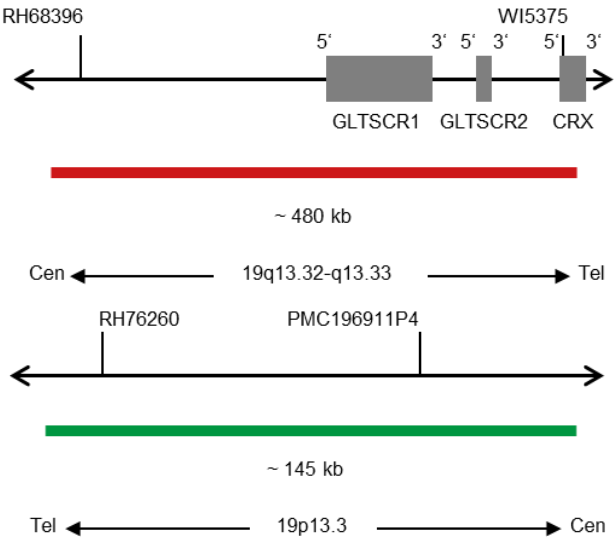

Abb. 2: Oben: SPEC 19q13 Sondenlokalisation; Unten: SPEC 19p13 Sondenlokalisation (nicht maßstabsgetreu)

Das ZytoDot 2C Glioma 1p/19q Probe Set ist verfügbar in zwei Größen:

- C-3076-10: Die individuellen Sonden sind für 10 Reaktionen von je 10 µl ausreichend
- C-3076-40: 0 Die individuellen Sonden sind für 40 Reaktionen von je 10 µl ausreichend

4. Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien

- ZytoDot 2C CISH Implementation Kit (Prod. No. C-3044-10/-40)
- Positive und negative Kontrollproben
- Objektträger, positiv geladen
- Wasserbad (80°C, 98°C)
- Hybridizer oder Wärmeplatte
- Hybridizer oder Feuchtekammer im Hybridisierungsofen
- Verstellbare Pipetten (10 µl, 1000 µl)
- Küvetten oder Färbetröge
- Stoppuhr
- Kalibriertes Thermometer
- Ethanol oder denaturierter Alkohol
- Xylol
- Methanol 100%
- Wasserstoffperoxid (H_2O_2) 30%
- Deionisiertes oder destilliertes Wasser
- Deckgläser (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Naturkautschuk-Klebstoff, z.B. Fixogum Rubber Cement (Prod. Nr. E-4005-50/-125) oder Ähnliches
- Regelmäßig gewartetes Lichtmikroskop (400-630x)

5. Lagerung und Handhabung

Bei 2-8°C in aufrechter Position lagern. Unmittelbar nach Gebrauch wieder unter Lagerbedingungen aufbewahren. Keine Reagenzien nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatums verwenden. Das Produkt ist bei sachgemäßer Handhabung bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

6. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Gebrauchsanweisung vor der Verwendung lesen!
- Reagenzien nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden!
- Dieses Produkt enthält Substanzen (in geringen Konzentrationen und Volumina), welche gesundheitsschädlich und potentiell infektiös sind. Jeder direkte Kontakt mit den Reagenzien muss vermieden werden. Entsprechende Schutzmaßnahmen (Verwendung von Einmalhandschuhen, Schutzbrille und Laborbekleidung) sind zu ergreifen!
- Schwerwiegende Vorfälle, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, in Übereinstimmung mit den örtlichen Vorschriften dem Hersteller sowie den zuständigen Behörden melden!
- Sollten Reagenzien mit der Haut in Kontakt kommen, die betroffenen Stellen sofort mit viel Wasser abspülen!
- Ein Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage für den professionellen Anwender verfügbar.
- Reagenzien nicht wiederverwenden, außer die Wiederverwendung ist ausdrücklich erlaubt!
- Kreuzkontaminationen der Präparate vermeiden, da diese zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Die Präparate dürfen während der Hybridisierungs- und Waschschritte nicht austrocknen!

Gefahren- und Sicherheitshinweise:

Die gefahrbestimmende Komponente ist Formamid.

Gefahr

H351	Kann vermutlich Krebs erzeugen.
H360FD	Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen. Kann das Kind im Mutterleib schädigen.
H373	Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition.
P201	Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.
P202	Vor Gebrauch alle Sicherheitshinweise lesen und verstehen.
P260	Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.
P308+P313	BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P405	Unter Verschluss aufbewahren.

7. Einschränkungen

- Für die Verwendung als In-vitro-Diagnostikum.
- Nur für die professionelle Anwendung.
- Nur für den nicht-automatischen Gebrauch.
- Die klinische Interpretation jeglicher positiven Färbung bzw. deren Abwesenheit muss im Kontext mit der klinischen Anamnese, Morphologie, anderer histopathologischer Kriterien sowie weiterer diagnostischer Tests erfolgen. Es obliegt der Verantwortung eines qualifizierten Pathologen, mit CISH Sonden, Reagenzien, Diagnose-Panels und den zur Erstellung von gefärbten Präparaten verwendeten Methoden vertraut zu sein. Die Färbung ist in einem zertifizierten, lizenzierten Labor unter Aufsicht eines Pathologen durchzuführen, der für die Auswertung der Färbepräparate und für die Sicherstellung der Eignung von positiven und negativen Kontrollen verantwortlich ist.
- Die Färbung der Präparate, insbesondere die Signalintensität und die Hintergrundfärbung, ist abhängig von der Behandlung und Prozessierung der Präparate vor der Färbung. Unsachgemäßes Fixieren, Einfrieren, Auftauen, Waschen, Trocknen, Erhitzen, Schneiden oder Kontamination mit anderen Präparaten oder Flüssigkeiten können Artefakte oder falsche Ergebnisse verursachen. Inkonsistente Ergebnisse können von Variationen bei Fixierungs- und Einbettungsverfahren sowie von inhärenten Unregelmäßigkeiten innerhalb des Präparates resultieren.
- Die Sonde ist nur für den Nachweis der Loci, die in Kapitel 3 „Enthaltene Reagenzien“ beschrieben werden, zu verwenden.
- Die Leistung wurde unter Verwendung der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren validiert. Abweichungen von diesen Verfahren können die Leistung beeinflussen und müssen vom Anwender validiert werden. Dieses IVD ist nur dann CE-zertifiziert, wenn es wie in dieser Gebrauchsanweisung beschrieben im Rahmen der bestimmungsgemäßen Verwendung eingesetzt wird.

8. Störsubstanzen

Folgende Fixierungen sind nicht kompatibel mit ISH:

- Bouin Fixierung
- B5 Fixierung
- Saure Fixiermittel (z.B. Pikrinsäure)
- Zenker Fixierung
- Alkohole (bei alleiniger Verwendung)
- Quecksilberchlorid
- Formaldehyd/Zink Fixiermittel
- Hollande Fixierung
- Ungepuffertes Formalin

9. Vorbereitung der Präparate

Die Präparatevorbehandlung ist wie in der Gebrauchsanweisung des ZytoDot 2C CISH Implementation Kit beschrieben durchzuführen.

10. Vorbereitung der Reagenzien

Das Produkt ist gebrauchsfertig. Kein Rekonstituieren, Mischen oder Verdünnen ist notwendig. Die Sonde vor der Anwendung lichtgeschützt auf Raumtemperatur (18-25°C) bringen. Vor dem Öffnen durch Vortexen mischen und kurz herunterzentrifugieren.

11. Testverfahren

Vorbehandlung der Präparate
Die Präparatevorbehandlung (Entwaxen, Proteolyse) wie in der Gebrauchsanweisung des ZytoDot 2C CISH Implementation Kit beschrieben durchzuführen.

Denaturierung und Hybridisierung

1. 10 µl der Sonde auf jedes der vorbehandelten Präparate pipettieren.
2. Die Präparate mit 22 mm x 22 mm Deckgläser abdecken (Einschluss von Luftbläschen vermeiden) und das Deckglas versiegeln.

Wir empfehlen die Verwendung von Naturkautschuk-Klebstoff (z.B. Fixogum zum Versiegeln.

3. Die Objektträger auf einer Wärmeplatte oder in einem Hybridizer platzieren und die Proben für 5 min bei 79 °C denaturieren.
4. Die Objektträger in eine Feuchtekammer im Hybridisierungsofen überführen und übernacht bei 37 °C hybridisieren.

Es ist wichtig, dass die Proben während des Hybridisierungsschritts nicht austrocknen.

Post-Hybridisierung
Perform Die Post-Hybridisierung (Waschen, Detektion, Gegenfärbung, Eindecken, Mikroskopie) gemäß der Gebrauchsanweisung des ZytoDot 2C CISH Implementation Kit durchführen.

12. Interpretation der Ergebnisse

ZytoDot 2C SPEC 1p36/1q25 Probe:

Bei Verwendung des ZytoDot 2C CISH Implementation Kits erscheinen die Hybridisierungssignale der Digoxigenin-markierten Polynukleotide als dunkelgrün gefärbte eindeutige Punkte (1q25 Locus) und Dinitrophenyl-markierte Polynukleotide erscheinen als hellrot gefärbte eindeutige Punkte (1p36 Locus).

Normale Situation: In Interphasen von normalen Zellen oder Zellen ohne eine Deletion des 1p36 Locus erscheinen zwei grüne und zwei rote eindeutig punktförmige Signale (siehe Abb. 3).

Aberrante Situation: In einer Zelle mit Deletion, die den 1p36 Locus betrifft, kann eine reduzierte Anzahl roter Signale beobachtet werden. Deletionen, welche nur Teile des 1p36 Locus betreffen, können zu einem normalen Signalmuster mit roten Signalen reduzierter Größe führen (siehe Abb. 3).

Sich überlagernde Signale können als braune Signale erscheinen.

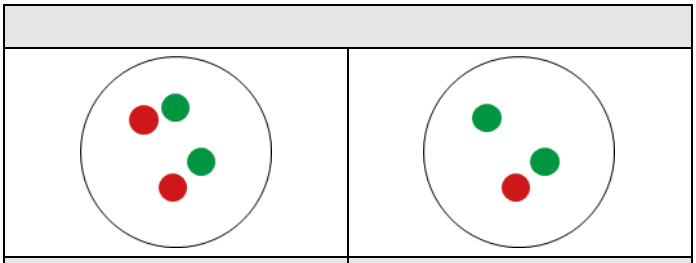

Abb. 3: Zu erwartende Ergebnisse in normalen und aberranten Zellkernen

Bei einigen aberranten Präparaten können andere Signalmuster als die oben beschriebenen beobachtet werden. Diese unerwarteten Signalmuster sollten weiter untersucht werden.

ZytoDot 2C SPEC 19q13/19p13 Probe:

Bei Verwendung des ZytoDot 2C CISH Implementation Kits erscheinen die Hybridisierungssignale der Digoxigenin-markierten Polynukleotide als dunkelgrün gefärbte eindeutige Punkte (19p13 Locus) und Dinitrophenyl-markierte Polynukleotide erscheinen als hellrot gefärbte eindeutige Punkte (19q13 Locus).

Normale Situation: In Interphasen von normalen Zellen oder Zellen ohne eine Deletion des 19q13 Locus erscheinen zwei grüne und zwei rote eindeutig punktförmige Signale (siehe Abb. 4).

Aberrante Situation: In einer Zelle mit Deletion, die den 19q13 Locus betrifft, kann eine reduzierte Anzahl roter Signale beobachtet werden. Deletionen, welche nur Teile des 19q13 Locus betreffen, können zu einem normalen Signalmuster mit roten Signalen reduzierter Größe führen (siehe Abb. 4).

Sich überlagernde Signale können als braune Signale erscheinen.

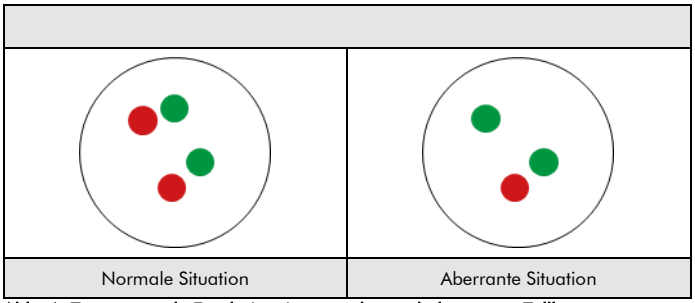

Abb. 4: Zu erwartende Ergebnisse in normalen und aberranten Zellkernen

Bei einigen aberranten Präparaten können andere Signalmuster als die oben beschriebenen beobachtet werden. Diese unerwarteten Signalmuster sollten weiter untersucht werden.

Bitte beachten:

- Aufgrund von dekondensiertem Chromatin können einzelne CISH-Signale als kleine Signal-Cluster erscheinen. Daher sollten zwei oder drei Signale der gleichen Größe mit einer Distanz von ≤ 1 Signaldurchmesser als ein Signal gewertet werden.
- Vor Auszählung der Signale sollte das Präparat auf jegliche mögliche intratumorale Heterogenität bei einer 100-200fachen Vergrößerung untersucht werden.
- Die Signale sollten mindestens mit einer 400fachen Vergrößerung visualisiert werden, sodass die Signale gut zu erkennen sind. Für Sonden zum Nachweis von Chromosomenbrüchen wird eine 630fache Vergrößerung empfohlen. Verwenden Sie keine kontrastverstärkenden Filterlinsen, da dies die Signalfarbe verzerren könnte. Um Signale in hellen Farben zu erhalten, öffnen Sie die Aperturblende. Stellen Sie sicher, dass Sie bei der Auswertung eines Zellkerns nach oben und unten fokussieren, da sich rote und grüne Signale übereinander befinden können.
- Keine nekrotischen Bereiche, sich überlagernde Zellkerne, überverdaute Zellkerne oder Zellkerne mit schwacher Signalintensität auswerten.
- Zusätzliche Signale können aufgrund von Mitose auch in einem kleinen Prozentsatz von nicht-neoplastischen Zellen auftreten. Aufgrund von Schnitt-Artefakten können bei Paraffin-eingebetteten Geweben gelegentlich Zellkerne mit fehlenden Signalen beobachtet werden.
- Ein negatives oder unspezifisches Ergebnis kann durch verschiedene Faktoren verursacht werden (siehe Kapitel 16 "Fehlerbehebung").
- Um die Ergebnisse korrekt zu interpretieren, muss der Anwender das Produkt vor der Anwendung in diagnostischen Verfahren unter Berücksichtigung nationaler und/oder internationaler Richtlinien validieren.

13. Empfohlene Qualitätskontrollverfahren

Um die korrekte Funktionsweise der verwendeten Präparate und Testreagenzien zu überwachen, sollte jeder Test von internen und externen Kontrollen begleitet werden. Falls interne und/oder externe Kontrollen keine adäquate Färbung zeigen, müssen die Ergebnisse der Patientenproben als ungültig angesehen werden.

Interne Kontrolle: Nicht-neoplastische Zellen innerhalb des Präparates, die ein normales Signalmuster aufweisen, z.B. Fibroblasten.

Externe Kontrolle: Validierte positive und negative Kontrollproben.

14. Leistungsmerkmale

14.1 Analytische Leistung

Die Leistung der Sonde wurde durch den Vergleich mit der entsprechenden IVD-zugelassenen FISH-Sonde bestimmt.

Analytische Sensitivität:	100% (95% CI 98.5 – 100.0)
Analytische Spezifität:	100% (95% CI 97.0 – 100.0)

Die Tag-zu-Tag-Reproduzierbarkeit wurde getestet, indem die von einem Prüfer an 10 verschiedenen Tagen erzielten Ergebnisse verglichen und die Übereinstimmung bewertet wurde.

	Prozentuale Übereinstimmung
Negative Präparate	100%
Positive Präparate	100%

Die Wiederholbarkeit wurde getestet, indem die von einem Prüfer an 10 verschiedenen Tagen erzielten Ergebnisse verglichen und die Übereinstimmung bewertet wurde.

	Prozentuale Übereinstimmung
Negative Präparate	100%
Positive Präparate	100%

14.2 Klinische Leistung

Diagnostische Sensitivität	**ZytoDot 2C SPEC 1p36/1q25 Probe**: 100% (95% CI 91.6 – 100.0) vs FISH **ZytoDot 2C SPEC 19q13/19p13 Probe:** 100% (95% CI 91.4 – 100.0) vs. FISH
Diagnostische Spezifität	**ZytoDot 2C SPEC 1p36/1q25 Probe:** 100% (95% CI 91.6 – 100.0) vs FISH **ZytoDot 2C SPEC 19q13/19p13 Probe:** 100% (95% CI 91.4 – 100.0) vs. FISH

15. Entsorgung

Die Entsorgung der Reagenzien muss in Übereinstimmung mit den örtlichen Vorschriften erfolgen.

16. Fehlerbehebung

Jede Abweichung von der Gebrauchsanweisung kann zu schwachen bis gar keinen Färbungen führen. Weitere Informationen erhalten Sie unter www.zytovision.com.

Schwache oder keine Signale

Mögliche Ursache	Lösung
Proteolytische Vorbehandlung nicht optimal	Die Inkubationszeit mit Pepsin optimieren, falls notwendig erhöhen oder reduzieren
Verdunstung der Sonde	Bei der Nutzung eines Hybridizers ist die Verwendung von feuchten Vliesstreifen/Wassertanks erforderlich. Bei der Nutzung eines Hybridisierungsofens muss eine Feuchtekammer verwendet werden. Zusätzlich sollte das Deckglas, z.B. mit Fixogum, vollständig versiegelt werden, um ein Austrocknen der Präparat während der Hybridisierung zu verhindern.
Dauer der Gegenfärbung zu lang	Dunkle Gegenfärbungen vermeiden, da diese positive Signale verdecken könnten
Bläuen der Gegenfärbung nicht ausreichend durchgeführt	Für das Bläuen kaltes Leitungswasser verwenden; kein warmes bzw. heißes Wasser oder Bläuungsreagenzien verwenden

Signale sind zu stark

Mögliche Ursache	Lösung
Dauer der proteolytischen Vorbehandlung zu lang	Die Inkubationszeit mit Pepsin optimieren, falls notwendig erhöhen oder reduzieren
Inkubationszeit mit AP-Red Solution nicht korrekt	Falls erforderlich kann die Inkubationszeit bis auf 5 min verkürzt werden; die Substratlösung nicht über 25°C erhitzen; nur bei Raumtemperatur inkubieren
Inkubationszeit mit HRP-Green Solution nicht korrekt	Falls erforderlich, kann die Inkubationszeit bis auf 7 min verkürzt werden; die Substratlösung nicht über 25°C erhitzen; nur bei Raumtemperatur inkubieren

Rote Signale zu schwach

Mögliche Ursache	Lösung
AP-Red Solution wurde starkem direktem Licht ausgesetzt	AP-Red Solution vor starkem direktem Licht geschützt vorbereiten und verwenden
AP-Red Solution wurde zu früh vorbereitet	Vor der sofortigen Verwendung vorbereiten
Inkubationszeit mit AP-Red Solution nicht korrekt	Falls erforderlich kann die Inkubationszeit bis zu 15 min verlängert werden
Unzureichende Vorbereitung des chromogenen Substrates	Das Volumen von Solution A nicht erhöhen

Grüne Signale zu schwach

Mögliche Ursache	Lösung
Inkubationszeit der Waschschritte nach der Färbung mit HRP-Green zu lang	Die angegebenen Inkubationszeiten nicht überschreiten
Inkubationszeit mit HRP-Green Solution nicht korrekt	Falls erforderlich kann die Inkubationszeit bis zu 15 min verlängert werden
Unzureichende Vorbereitung des chromogenen Substrates	Das Volumen von Solution A nicht erhöhen

Signale verblassen oder verschmelzen

Mögliche Ursache	Lösung
Verwendung eines ungeeigneten Eindeckmediums	Nur das Eindeckmedium, welches mit dem Kit zur Verfügung gestellt wird, oder Xylol-basierte Eindeckmedien frei von Unreinheiten verwenden; keine Eindeckfolie verwenden
Schnitte wurden nicht ausreichend dehydriert	Frische Ethanol- und Xylol-Lösungen verwenden, nur Xylol mit „reiner“ Qualität verwenden

Ungleichmäßige oder teils nur sehr leichte Färbung

Mögliche Ursache	Lösung
Unvollständiges Entparaffinieren	Frische Lösungen verwenden, Dauer des Entparaffinierens überprüfen
Volumen der Reagenzien zu gering	Sicherstellen, dass das Volumen der Reagenzien groß genug ist, um den Bereich des Gewebes zu bedecken

Inkonsistente Ergebnisse

Mögliche Ursache	Lösung
Unzureichende Trocknung vor Applikation der Sonde	Lufttrocknung verlängern

Zu viel Wasser/Waschpuffer auf dem Gewebe vor Applikation von Pepsin, Antikörpern und/oder Farbsubstraten	Überschüssige Flüssigkeit durch Abklopfen oder Abschütteln des Objektträgers von dem Gewebeschnitt entfernen. Kleinere Mengen an restlichem Wasser/Waschpuffer beeinträchtigen nicht den Test
Variierende Methoden der Gewebefixierung oder Einbettung	Methoden der Fixierung und Einbettung optimieren
Variierende Gewebedicke	Schneiden optimieren

Degradierte Morphologie

Mögliche Ursache	Lösung
Zell- oder Gewebeproben sind nicht optimal fixiert	Die Fixierzeit und das Fixiermittel optimieren
Proteolytische Vorbehandlung zu stark	Die Inkubationszeit mit Pepsin reduzieren

Kreuzhybridisierungssignale, Hintergrundsignale

Mögliche Ursache	Lösung
Schnitte sind irgendwann während oder nach der Hybridisierung ausgetrocknet	Das Austrocknen der Schnitte vermeiden; Feuchtekammern verwenden; Deckglas sorgfältig abdichten
Verlängerte Inkubationszeit des Substrates	Inkubationszeit des Substrates verkürzen
Unvollständiges Entparaffinieren	Frische Lösungen verwenden, Dauer des Entparaffinierens überprüfen
Proteolytische Vorbehandlung zu stark	Inkubationszeit von Pepsin optimieren
Objektträger sind vor der Hybridisierung auf Raumtemperatur abgekühlt	Die Objektträger zügig auf Hybridisierungstemperatur überführen

Überlagernde Zellkerne

Mögliche Ursache	Lösung
Ungeeignete Dicke der Gewebeschnitte	3-5 µm dicke Mikrotomschnitte anfertigen

Präparat löst sich vom Objektträger

Mögliche Ursache	Lösung
Proteolytische Vorbehandlung ist zu stark	Inkubationszeit mit Pepsin reduzieren

17. Literatur

- Lass U, et al. (2013) *Brain Pathol 23*: 311-8.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, *Oxford University Press* (1992) ISBN 0 19 963327 4.

18. Revision

Revision	Beschreibung der Änderung
5.1.1	Änderung der Benanntenstelle 14. Leistungsmerkmale Genauigkeit hinzugefügt

www.zytovision.com

Die aktuellste Gebrauchsanweisung sowie Gebrauchsanweisungen in verschiedenen Sprachen finden Sie unter www.zytovision.com.

Unsere Experten stehen Ihnen für Ihre Fragen zur Verfügung.
Bitte kontaktieren Sie helptech@zytovision.com
Einen Kurzbericht über Sicherheit und Leistung finden Sie unter www.zytovision.com.

ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Germany
Telefon: +49 471 4832-300
Fax: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
Email: info@zytovision.com

Warenzeichen:
ZytoVision® und ZytoDot® sind Warenzeichen der ZytoVision GmbH.