



**F/*ex*SH**  
**ALK/ROS1 DistinguSH Probe**

REF	Z-2203-50	▽	5 (0,05 ml)
REF	Z-2203-200	▽	20 (0,2 ml)

Für den qualitativen Nachweis von Translokationen des humanen ALK-Gens bei 2p23.1-p23.2 und des humanen ROS1-Gens bei 6q22.1 mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH)



In-vitro-Diagnostikum  
gemäß EU Richtlinie 98/79/EC

**1. Verwendungszweck**

Die *Flex*SH ALK/ROS1 DistinguSH Probe (PL161) ist für den qualitativen Nachweis von Translokationen des humanen ALK-Gens bei 2p23.1-p23.2 und des humanen ROS1-Gens bei 6q22.1 in Formalin-fixierten, Paraffin-eingebetteten Geweben wie beispielsweise Geweben aus nichtkleinzelligem Lungenkrebs (NSCLC) mittels Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) bestimmt. Die Sonde ist für die Verwendung in Kombination mit dem *Flex*SH-Tissue Implementation Kit (Prod. No. Z-2182-5/-20) vorgesehen.

Die Interpretation der Ergebnisse muss im Kontext mit der klinischen Anamnese unter Berücksichtigung weiterer klinischer und pathologischer Daten des Patienten durch einen qualifizierten Pathologen erfolgen.

**2. Klinische Relevanz**

Sowohl das ALK-, als auch das ROS1-Gen codieren für eine transmembrane Rezeptor-Tyrosinkinase. Rearrangierungen, welche die ALK- oder die ROS1-Genregion betreffen, finden sich häufig beim nichtkleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC). Die häufigste ALK-Rearrangierung bei NSCLC ist eine Inversion [inv(2)(p21p23)], welche die beiden auf Chromosom 2 liegenden Gene ALK und EML4 betrifft. Aus dieser Inversion resultiert ein Fusionsprotein, das durch Autophosphorylierung konstitutiv aktiviert wird und wiederum die maligne Zelltransformation durch Aktivierung von Downstream-Effektoren vermittelt. Beim NSCLC wurden mehrere ROS1-Translokationspartner entdeckt, die alle zur Fusion von variabel trunkeierten Formen von z.B. TPM3, SDC4, SLC34A2, CD74, EZR oder LRIG3 an die Kinasedomäne von ROS1 führen. Darüber hinaus wurden in NSCLC Fusionen von ROS1 mit GOPC detektiert. GOPC-ROS1-Fusionen resultieren aus einer interstitiellen Deletion von ca. 240 kb bei 6q22.1. Das ROS1-Gen ist evolutionär eng mit der ALK-Familie verwandt, was einen Teil der wissenschaftlichen Basis für die Verwendung von Inhibitoren von ALK als Inhibitoren von ROS1 bildet. ALK- und ROS1-positive NSCLC-Patienten profitieren von einer gezielten Tyrosinkinase-spezifischen Therapie, wie z.B. mit Crizotinib. Daher kann der Nachweis von ALK- und ROS1-Rearrangierungen durch Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung von therapeutischer Bedeutung sein.

**3. Prinzip der Methode**

Die Fluoreszenz-*in-situ*-Hybridisierung (FISH) Technik erlaubt den Nachweis und die Visualisierung von spezifischen Nukleinsäuresequenzen in Zellpräparationen. Fluoreszenzmarkierte DNA-Fragmente, sogenannte FISH-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. Nach der Gegenfärbung der DNA mit DAPI werden hybridisierte Sondenfragmente mit einem Fluoreszenzmikroskop visualisiert, welches für die Fluorochrome spezifischen Anregungs- und Emissionsfiltern ausgestattet ist, mit denen die FISH-Sondenfragmente direkt markiert wurden.

**4. Enthaltene Komponenten**

Die *Flex*SH ALK/ROS1 DistinguSH Probe besteht aus:

- ZyGreen (Anregung 503 nm/Emission 528 nm) markierten Polynukleotiden (~10 ng/μl), die gerichtet sind gegen Sequenzen in 2p23.1-p23.2\* (chr2:29,460,144-30,095,822), welche proximal zur ALK-Bruchpunktregion lokalisiert sind, und in 6q22.1\* (chr6:116,912,298-117,627,255), welche proximal zur ROS1-Bruchpunktregion lokalisiert sind (siehe Abb. 1 & Abb. 2).
- ZyOrange (Anregung 547 nm/Emission 572 nm) markierten Polynukleotiden (~2,5 ng/μl), die gerichtet sind gegen Sequenzen in 2p23.2\* (chr2:29,174,204-29,383,335), welche distal zur ALK-Bruchpunktregion lokalisiert sind, und in 6q22.1\* (chr6:117,659,135-117,871,701), welche distal zur ROS1-Bruchpunktregion lokalisiert sind (siehe Abb. 1 & Abb. 2).
- ZyBlue (Anregung 418 nm/Emission 467 nm) markierten Polynukleotiden (~70,0 ng/μl), die gerichtet sind gegen Sequenzen in 6q22.1\* (chr6:116,671,642-117,260,761), welche proximal zur ROS1-Bruchpunktregion mit den grün markierten ROS1-Polynukleotiden kolokalisieren und in 6q22.1-q22.2\* (chr6:117,765,211-118,444,005), welche distal zur ROS1-Bruchpunktregion mit den orange markierten ROS1-Polynukleotiden kolokalisieren (siehe Abb. 2).
- Hybridisierungsbuffer auf Basis von Formamid

\*nach Human Genome Assembly GRCh37/hg19

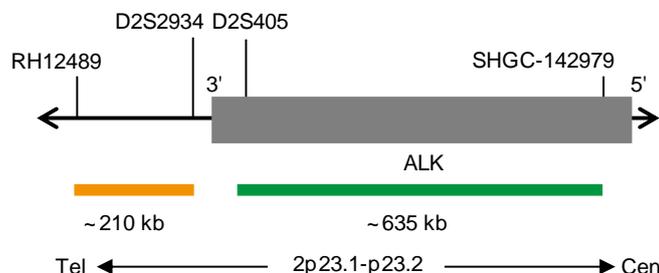


Abb. 1: ALK Sondenlokalisierung (nicht maßstabsgetreu)

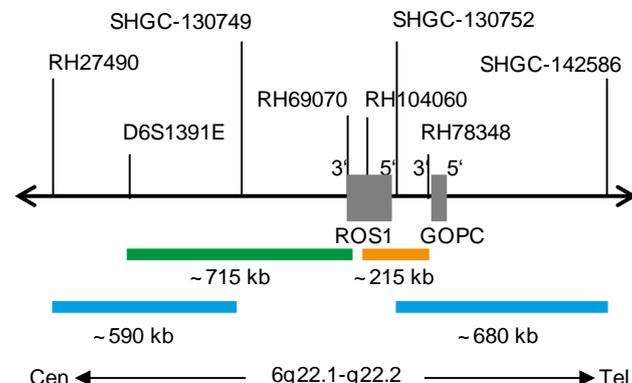


Abb. 2: ROS1 Sondenlokalisierung (nicht maßstabsgetreu)

Die FlexISH ALK/ROS1 DistinguISH Probe ist verfügbar in zwei Größen:

- Z-2203-50: 0,05 ml (5 Reaktionen von je 10 µl)
- Z-2203-200: 0,2 ml (20 Reaktionen von je 10 µl)

## 5. Benötigte, aber nicht bereitgestellte Materialien

- FlexISH-Tissue Implementation Kit (Prod. No. Z-2182-5/-20)
- Positive und negative Kontrollproben
- Objektträger, positiv geladen
- Wasserbad (37°C, 98°C)
- Hybridizer oder Wärmeplatte
- Hybridizer oder Feuchtekommer im Hybridisierungssofen
- Verstellbare Pipetten (10 µl, 25 µl)
- Küvetten oder Färbetröge
- Stoppuhr
- Kalibriertes Thermometer
- Ethanol oder denaturierter Alkohol
- Xylol
- Deionisiertes oder destilliertes Wasser
- Deckgläser (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Naturkautschuk-Klebstoff, z.B. Fixogum Rubber Cement (Prod. Nr. E-4005-50/-125) oder Ähnliches
- Regelmäßig gewartetes Fluoreszenzmikroskop (400-1000x)
- Immersionsöl, geeignet für Fluoreszenzmikroskopie
- Entsprechende Filtersätze

## 6. Lagerung und Handhabung

Bei 2-8°C in aufrechter Position und lichtgeschützt lagern. Vor Licht geschützt verwenden. 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.

## 7. Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Die Sonde sollte nicht für längere Zeit dem Licht, insbesondere intensivem Licht, ausgesetzt werden. Das bedeutet, falls möglich sollten alle Arbeitsschritte im Dunkeln und/oder unter Verwendung von lichtundurchlässigen Behältnissen durchgeführt werden!
- 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!
- Sollten Reagenzien mit der Haut in Kontakt kommen, die betroffenen Stellen sofort mit viel Wasser abspülen!
- Ein Sicherheitsdatenblatt ist auf Anfrage für den beruflichen Anwender verfügbar.
- Die Reagenzien nicht wiederverwenden.
- Kreuzkontaminationen der Präparate vermeiden, da diese zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

## Gefahren- und Sicherheitshinweise:

Die gefahrbestimmende Komponente ist Formamid.



**Gefahr**

H319	Verursacht schwere Augenreizung.
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.
P260	Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen.
P280	Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P305+P351 + P338	BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
P308+P313	BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P337+P313	Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

## 8. Einschränkungen

- Für die Verwendung als In-vitro-Diagnostikum.
- Nur für die professionelle Anwendung.
- 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 FISH 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 Färbepreparate 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 4. „Enthaltene Komponenten“ 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.

## 9. Störsubstanzen

Rote Blutzellen innerhalb des Präparates können Autofluoreszenz verursachen, welche die Signalerkennung behindert.

Folgende Fixierungen sind nicht kompatibel mit FISH:

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

## 10. Vorbereitung der Präparate

Die Präparatvorbereitung ist wie in der Gebrauchsanweisung des [FlexISH-Tissue Implementation Kit](#) beschrieben durchzuführen.

## 11. 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.

## 12. Durchführung

### Vorbereitung der Präparate

Die Präparatvorbereitung ist wie in der Gebrauchsanweisung des [FlexISH-Tissue 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 Deckgläsern 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 10 min bei 75°C denaturieren.
  4. Die Hybridisierung für 2h bis 16h (d.h. über Nacht) bei 37°C durchführen, indem die Objektträger entweder in einen Hybridizer oder in eine Feuchteammer im Hybridisierungssofen überführt werden.

*Es ist essentiell, dass die Präparate während des Hybridisierungsschritts nicht austrocknen.*

### Post-Hybridisierung

Die Post-Hybridisierung (Waschen, Gegenfärbung, Fluoreszenzmikroskopie) gemäß der Gebrauchsanweisung des [FlexISH-Tissue Implementation Kit](#) durchführen.

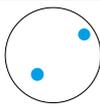
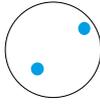
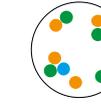
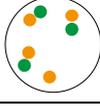
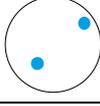
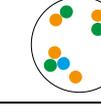
## 13. Interpretation der Ergebnisse

Bei Verwendung von geeigneten Filtersätzen erscheinen die Hybridisierungssignale der Sonde grün (proximal zur ALK- und ROS1-Bruchpunktregion), orange (distal zur ALK- und ROS1-Bruchpunktregion) und blau (proximal und distal zur ROS1-Bruchpunktregion).

**Normale Situation:** In Interphasen von normalen Zellen oder Zellen ohne eine ALK- oder ROS1-Rearrangierung erscheinen vier grün/orange Fusionssignale unter Verwendung eines geeigneten Dual Bandpass Filter Sets und zwei blaue Signale bei Verwendung eines geeigneten Single Bandpass Filter Sets (siehe Abb. 3).

**Aberrante Situation:** Eine von einer Translokation betroffene ALK-Genregion wird durch ein separates grünes Signal und ein separates oranges Signal gekennzeichnet, welche nicht mit einem blauen Signal kolokalisieren. Der Verlust eines grünen Signals, der zu einem einzelnen orangen Signal führt, ist das Ergebnis der Deletion von 5'-ALK-Sequenzen. Eine von einer Translokation betroffene ROS1-Genregion wird durch ein separates grünes Signal und ein separates oranges Signal gekennzeichnet, welche beide mit je einem blauen Signal kolokalisieren. Der Verlust eines orangen Signals, der zu einem einzelnen grünen Signal kolokalisiert mit einem blauen Signal führt, ist das Ergebnis einer Deletion distal zur ROS1-Bruchpunktregion oder entsteht durch eine balancierte Translokation diese chromosomale Region betreffend (siehe Abb. 3).

*Sich überlagernde Signale können als gelbe Signale erscheinen.*

	Grün/Orange Dual Bandpass Filter Set	Blaues Single Bandpass Filter Set	Überlagertes Bild oder Triple Bandpass Filter Set
Normale Zellen			
ALK-Rearrangierung			
ROS1-Rearrangierung			

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

Genomische Aberrationen aufgrund kleinerer Deletionen, Duplikationen oder Inversionen können zu unauffälligen Signalmustern führen. Bei einigen aberranten Präparaten kann eine abweichende Signalverteilung beobachtet werden, welche zu einem anderen Signalmuster als zuvor beschrieben führen kann. Dies kann auf abweichende Rearrangierungen hinweisen. Unerwartete Signalmuster sollten näher untersucht werden.

### Bitte beachten:

- Aufgrund von dekondensiertem Chromatin können einzelne FISH-Signale als kleine Signal-Cluster erscheinen. Daher sollten zwei oder drei Signale der gleichen Größe mit einer Distanz von  $\leq 1$  Signaldurchmesser als ein Signal gewertet werden.
- Sich überlagernde Zellkerne nicht auswerten.
- Über-verdaute Zellkerne nicht auswerten (erkennbar als dunkle Areale im Zellkern).
- Keine Auswertung von Zellen mit starker Eigenfluoreszenz, welche die Signalerkennung behindert.
- Ein negatives oder unspezifisches Ergebnis kann durch verschiedene Faktoren verursacht werden (siehe Kapitel 17).
- 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.

### 14. Empfohlene Qualitätskontrollverfahren

Um die korrekte Leistung 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.

### 15. Leistungsmerkmale

**Genauigkeit:** Die Lokalisation der Hybridisierung der Sonde wurde auf Metaphasen eines karyotypisch unauffälligen Mannes überprüft. Die Sonde hybridisierte in allen getesteten Präparaten nur an die erwarteten Loci. Es wurden keine zusätzlichen Signale oder Kreuzhybridisierungen beobachtet. Daher wurde eine Genauigkeit von 100% berechnet.

**Analytische Sensitivität:** Für die Bestimmung der analytischen Sensitivität wurde die Sonde auf Metaphasen von karyotypisch unauffälligen Männern getestet. Sämtliche Zellkerne zeigten das erwartete unauffällige Signalmuster in allen getesteten Präparaten. Daher wurde eine analytische Sensitivität von 100% berechnet.

**Analytische Spezifität:** Für die Bestimmung der analytischen Spezifität wurde die Sonde auf Metaphasen von karyotypisch unauffälligen Männern getestet. In sämtlichen getesteten Präparaten hybridisierten alle Signale nur an die erwarteten Zielbereiche und an keine weiteren Loci. Daher wurde eine analytische Spezifität von 100% berechnet.

### 16. Entsorgung

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

### 17. Fehlerbehebung

Jede Abweichung von der Gebrauchsanweisung kann zu schwachen bis gar keinen Färbungen führen.

#### Schwache oder keine Signale

Mögliche Ursache	Lösung
Es sind keine Zielsequenzen vorhanden	Geeignete Kontrollen verwenden
Zell- oder Gewebeproben sind nicht korrekt fixiert	Die Fixierzeit und das Fixiermittel optimieren
Temperatur der Hitze-Vorbehandlung, Proteolyse, Denaturierung, Hybridisierung oder der Stringenzwaschung nicht korrekt	Die Temperatur aller technischen Geräte mit einem kalibrierten Thermometer überprüfen
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 Hybridisierungsgefäßes muss eine Feuchtekammer verwendet werden. Zusätzlich sollte das Deckglas, z.B. mit Fixogum, vollständig versiegelt werden, um ein Austrocknen der Präparate während der Hybridisierung zu verhindern.
Zu gering konzentrierter Stringenzwaschpuffer	Die Konzentration des Stringenzwaschpuffers überprüfen
Alte Dehydrierungslösungen	Frische Dehydrierungslösungen ansetzen
Fluoreszenzmikroskop falsch eingestellt	Einstellungen überprüfen

Ungeeignete Filtersätze verwendet	Für die Fluorochrome der Sonde geeignete Filtersätze verwenden. <i>Triple-Bandpass-Filtersätze liefern im Vergleich zu Single- oder Dual-Bandpass-Filtersätzen weniger Licht. Daher können die Signale unter Verwendung von Triple-Bandpass-Filtersätzen schwächer erscheinen.</i>
Schädigungen der Sonden/Fluorophore durch Licht	Hybridisierung und Waschschriffe im Dunkeln durchführen

#### Kreuzhybridisierungssignale, Hintergrundsignale

Mögliche Ursache	Lösung
Unvollständiges Entparaffinieren	Frische Lösungen verwenden, Dauer des Entparaffinierens überprüfen
Proteolytische Vorbehandlung zu stark	Die Inkubationszeit mit Pepsin reduzieren
Sondenvolumen pro Fläche zu hoch	Das Volumen der Sonde pro Präparat/Fläche reduzieren, Sonde tropfenweise verteilen, um lokale Konzentration zu vermeiden
Objektträger sind vor der Hybridisierung auf Raumtemperatur abgekühlt	Objektträger schnell auf 37°C transferieren
Zu hoch konzentrierter Stringenzwaschpuffer	Die Konzentration des Stringenzwaschpuffers überprüfen
Temperatur der Waschschriffe nach Hybridisierung ist zu gering	Temperatur überprüfen und, wenn nötig, erhöhen
Austrocknung der Präparate zwischen den einzelnen Inkubationsschritten	Austrocknung durch Versiegeln der Objektträger und durch das Durchführen der Inkubation in feuchter Umgebung verhindern

#### Überlagernde Zellkerne

Mögliche Ursache	Lösung
Ungeeignete Dicke der Gewebeschnitte	2-4 µm dicke Mikrotomschnitte anfertigen

#### Degradierete Morphologie

Mögliche Ursache	Lösung
Zell- oder Gewebeproben sind nicht optimal fixiert	Die Fixierzeit und das Fixiermittel optimieren
Proteolytische Vorbehandlung nicht optimal ausgeführt	Die Inkubationszeit mit Pepsin optimieren
Unzureichende Trocknung vor Applikation der Sonde	Lufttrocknung verlängern

#### Präparat löst sich vom Objektträger

Mögliche Ursache	Lösung
Ungeeignete Beschichtung der Objektträger	Geeignete Objektträger (positiv geladen) verwenden
Proteolytische Vorbehandlung ist zu stark	Inkubationszeit mit Pepsin reduzieren

#### Schwache Gegenfärbung

Mögliche Ursache	Lösung
Gering konzentrierte DAPI-Lösung	DAPI/DuraTect-Solution (ultra) (Prod. Nr. MT-0008-0.8) stattdessen verwenden
Inkubationszeit mit DAPI zu kurz	Inkubationszeit mit DAPI anpassen

## 18. Literatur

- Bergethon K, et al. (2012) *J Clin Oncol* 30: 863-70.
- Birchmeier C, et al. (1987) *Proc Natl Acad Sci* 84: 9270-74.
- Bos M, et al. (2013) *Lung Cancer* 81: 142-3.
- Brockhoff G, et al. (2016) *Histopathology* 69: 635-46.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Koivunen JP, et al. (2008) *Clin Cancer Res* 14: 4275-83.
- Martelli MP, et al. (2009) *Am J Pathol* 174: 661-70.
- Morris SW, et al. (1994) *Science* 263: 1281-4.
- Ou SH, et al. (2012) *Exp Rev Anticancer Ther* 12: 447-56.
- Palmer RH, et al. (2009) *Biochem J* 420: 345-61.
- Sasaki T, et al. (2010) *Eur J Cancer* 46: 1773-80.
- Selinger CI, et al. (2017) *Histopathology* 70: 402-411.
- Shaw AT, et al. (2014) *N Engl J Med* 371: 1963-71.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

Unsere Experten stehen Ihnen für Ihre Fragen zur Verfügung.  
Bitte kontaktieren Sie [help@zytovision.com](mailto:help@zytovision.com)



ZytoVision GmbH  
Fischkai 1  
27572 Bremerhaven/Deutschland  
Telefon: +49 471 4832-300  
Fax: +49 471 4832-509  
[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)  
Email: [info@zytovision.com](mailto:info@zytovision.com)

### Warenzeichen:

ZytoVision® und F/xtSH® sind Warenzeichen der ZytoVision GmbH.