

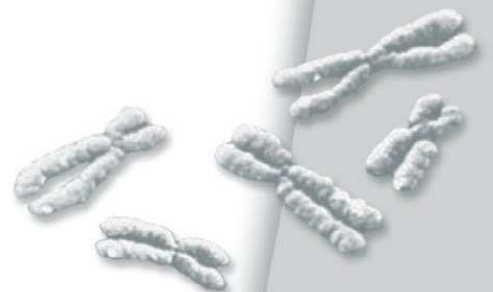
ZytoFast
DNA (-) Control Probe
(Biotin-markiert)

REF T-1023-100

10 (0,1 ml)

Zur Abschätzung der unspezifischen Hintergrundfärbung
durch chromogene *in situ* Hybridisierung (CISH)

Nur für Forschungszwecke bestimmt



**Biotin-markierte Oligonukleotid-Sonde zur Abschätzung der
unspezifischen Hintergrundfärbung mittels CISH,
gebrauchsfertig**

Produktbeschreibung

- Zusammensetzung:** ZytoFast DNA (-) Control Probe (PF8) in Hybridisierungspuffer. Die Sonde besteht aus Biotin-markierten Oligonukleotiden mit einem GC-Gehalt von 40-70% ohne bekannte Homologie zu natürlich vorkommenden Sequenzen.
- Produkt:** T-1023-100: 0,1 ml (10 Anwendungen à 10 µl)
- Spezifität:** Die Sonde ZytoFast DNA (-) Control Probe (PF8) ist zur Abschätzung der unspezifischen Hintergrundfärbung in formalinfixierten, paraffin-eingebetteten Gewebe- oder Zellproben mittels chromogener *in situ* Hybridisierung (CISH) bestimmt.
- Lagerung/Stabilität:** Die Sonde ZytoFast DNA (-) Control Probe (PF8) muss bei 2...8°C gelagert werden und ist bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil.
- Verwendung:** Dieses Produkt ist 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 gesundheitsgefährdende Stoffe in geringen Konzentrationen und Volumina. Der direkte Kontakt mit den Reagenzien muss vermieden werden. Entsprechende Schutzmaßnahmen sind zu treffen

(Benutzung von Einmalhandschuhen, Schutzbrille und Laborbekleidung)!

Bei Kontakt mit dem Reagenz müssen die betroffenen Stellen sofort mit viel Wasser abgespült werden!

Ein 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 der Biotin-markierten Sonde mit DNA-Sequenzen im Untersuchungsmaterial wird indirekt durch Enzym-konjugierte Antikörper, gerichtet gegen Biotin, oder über unkonjugierte Antikörper, die von sekundären, polymerisierten, Enzym-konjugierten Antikörpern detektiert werden, nachgewiesen. Die enzymatische Umsetzung eines chromogenen Substrates führt zur Bildung eines lichtmikroskopisch erkennbaren Farbpräzipitats.

Arbeitsanleitung

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

Sonde vor Gebrauch auf Hybridisierungstemperatur bringen.

Denaturierung und Hybridisierung der Sonde:

1. Die Sonde ZytoFast DNA (-) Control Probe (PF8) vortexen und je 10 μ l auf verschiedene Schnitte des Untersuchungsmaterials pipettieren

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

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

3. Die Objektträger für 5 min bei 75°C (z. B. auf einer Wärmeplatte) inkubieren

4. Die Objektträger in eine feuchte Kammer überführen und zur Hybridisierung für 60 min 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 ZytoFast-CISH-Systems von ZytoVision. Diese Systeme wurden auch für den Nachweis der Eignung der ZytoFast DNA (-) Control Probe (PF8) herangezogen.

Ergebnisse

Die ZytoFast DNA (-) Control Probe (PF8) besteht aus verschiedenen Oligonukleotiden mit einem GC-Gehalt von 40-70% ohne bekannte Homologie zu natürlich vorkommenden Sequenzen. Diese Sonde sollte nicht zu positiven Färbeprecipitaten führen und wird zur Abschätzung der unspezifischen Hintergrundfärbung verwendet.

Die Visualisierung der Signale sollte mit einem 10x- oder 20x-Objektiv erfolgen. Für die Beurteilung der Signale sollten nekrotische, degenerierte oder überverdaute Zellen vermieden werden, da diese häufig unspezifisch gefärbt werden.

Um die Spezifität der erhaltenen Signale beurteilen zu können und um die korrekte Durchführung der Methode zu überprüfen, sollten bei jedem Testdurchgang Kontrollen mitgeführt werden. Wir empfehlen mindestens einen Kontrollschnitt mit erwiesenermaßen korrekt positiv und negativ färbenden Zellen mitzuführen.

Unsere Experten beantworten gerne Ihre Fragen.

Literatur

Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, *Oxford University Press* (1992)
ISBN 0 19 963327 4.

Stand: 1. Januar 2015 (4.6)

Warenzeichen:

ZytoVision® und ZytoFast® sind Warenzeichen der ZytoVision GmbH.



ZytoVision GmbH · Fischkai 1
D - 27572 Bremerhaven · Germany
Phone: +49 (0) 471/4832 - 300
Fax: +49 (0) 471/4832 - 509
www.zytovision.com
info@zytovision.com



Your local distributor