

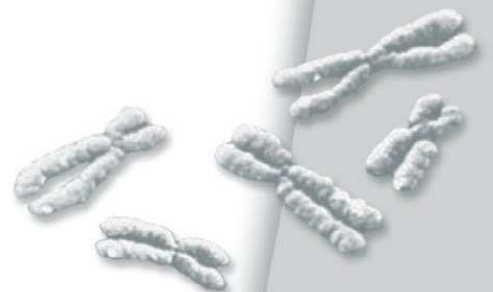
*ZytoLight*  
CEN Yq12 Probe

REF Z-2010-200

Σ 20 (0,2 ml)

Zum Nachweis humaner Chromosom-Yq12-spezifischer  
Sequenzen durch Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung  
(FISH)

Nur für Forschungszwecke bestimmt



Fluoreszenzmarkierte Polynukleotid-Sonde für den Nachweis  
humaner Chromosom-Y-spezifischer Sequenzen,  
gebrauchsfertig

## Produktbeschreibung

- Zusammensetzung:** ZytoLight CEN Yq12 Probe (PL2) in Hybridisierungspuffer. Die Sonde besteht aus grünmarkierten Polynukleotiden (ZyGreen: Absorption bei 503 nm und Emission bei 528 nm, ähnlich FITC), die gegen Sequenzen der Satelliten-III-Region (DYZ1) von Chromosom Y in der chromosomalen Region Yq12 gerichtet sind.
- Produkt:** Z-2010-200: 0,2 ml (20 Anwendungen à 10 µl)
- Spezifität:** Die Sonde ZytoLight CEN Yq12 Probe (PL2) ist für den Nachweis humaner Chromosom-Y-spezifischer Sequenzen in formalinfixierten, paraffin-eingebetteten Gewebe- oder Zellproben mittels Fluoreszenz *in situ* Hybridisierung (FISH) bestimmt.
- Lagerung/Stabilität:** Die Sonde ZytoLight CEN Yq12 Probe (PL2) muss bei 2...8°C vor Licht geschützt 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.

Duplexbildung (mit Chromosom-Yq12-Sequenzen im Untersuchungsmaterial) wird direkt über die Fluoreszenzmarkierung der Polynukleotide nachgewiesen.

# Arbeitsanleitung

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

Denaturierung und Hybridisierung der Sonde:

**1.** Je 10  $\mu\text{l}$  der Sonde ZytoLight CEN Yq12 Probe (PL2) 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. Deckglasränder z. B. mit einer Schicht Heißkleber mit Hilfe einer Klebepistole oder mit Rubber Cement abdichten

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

*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 von ZytoVision. Diese Systeme wurden auch für den Nachweis der Eignung der ZytoLight CEN Yq12 Probe (PL2) herangezogen.

## Ergebnisse

Bei Verwendung geeigneter Filtersätze erscheinen die Hybridisierungssignale für die Chromosom-Yq12-spezifischen Sequenzen als grüne Fluoreszenzsignale. In normalen männlichen Zellen bzw. männlichen Zellen ohne Veränderung von Chromosom Y, erscheint in der Interphase ein Chromosom-Y-Signal. In normalen weiblichen Zellen sind keine Signale vorhanden. In Zellen mit einer Aneuploidie von Chromosom Y sind abweichende Signalmuster in der Interphase zu erkennen.

Um die Spezifität der erhaltenen Signale beurteilen zu können, sollten bei jedem Testdurchgang Kontrollen mitgeführt werden. Wir empfehlen mindestens einen Kontrollschnitt mit bekannter Chromosom-Y-Kopienzahl mitzuführen.

Es sollte sorgfältig darauf geachtet werden, keine sich überlagernden Zell- bzw. Gewebebereiche auszuwerten, da übereinander liegende Zellen falsche Ergebnisse, wie z. B. eine Amplifikation, vortäuschen können. Auf Grund dekondensierten Chromatins können einzelne FISH-Signale auch als kleine Signal-Cluster erscheinen. Daher sollten zwei oder drei Signale der gleichen Größe, welche in einem Abstand von einem Signaldurchmesser oder weniger zueinander liegen, als ein Signal gezählt werden.

**Unsere Experten beantworten gerne Ihre Fragen.**

# Literatur

Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* **53**: 134-6.

Klinger K, et al. (1992) *Am J Hum Genet* **51**: 55-65.

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

*Stand: 8. Juli 2014 (5.2)*

## **Warenzeichen:**

ZytoVision® und ZytoLight® 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](http://www.zytovision.com)  
[info@zytovision.com](mailto:info@zytovision.com)



Your local distributor