





ZytoLight
FISH-Tissue Implementation Kit

REF Z-2028-5  5
REF Z-2028-20  20

Για χρήση σε διαδικασίες *in situ* υβριδισμού
φθορισμού (FISH)

4250380N177P



In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
σύμφωνα με τον Κανονισμό IVDR (κανονισμό για τα in vitro
διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα) (ΕΕ) 2017/746

1. Προβλεπόμενη χρήση

Το **ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit** προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με ανιχνευτές **ZytoLight FISH** σε σταθεροποιημένα με φορμαλίνη και ενσωματωμένα σε παραφίνη δείγματα μέσω *in situ* υβριδισμού φθορισμού (FISH).

Το προϊόν προορίζεται μόνο για επαγγελματική χρήση. Όλες οι δοκιμές που χρησιμοποιούν το προϊόν πρέπει να εκτελούνται σε πιστοποιημένο, αδειοδοτημένο εργαστήριο παθολογικής ανατομικής από εξειδικευμένο προσωπικό, υπό την επίβλεψη παθολογοανατόμου/γενετιστή.

2. Αρχή της δοκιμής

Η τεχνική *in situ* υβριδισμού φθορισμού (FISH) επιτρέπει την ανίχνευση και την οπτικοποίηση συγκεκριμένων αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων σε κυτταρικά παρασκευάσματα. Τα επισημασμένα με φθορισμό θραύσματα DNA, οι λεγόμενοι ανιχνευτές FISH (*in situ* υβριδισμού φθορισμού), και οι συμπληρωματικοί τους κλώνοι DNA στόχου στα παρασκευάσματα συν-μετουσιώνονται και στη συνέχεια αφήνονται να ανόπτουν κατά τη διάρκεια του υβριδισμού. Κατόπιν, τα μη ειδικά και μη δεσμευμένα θραύσματα ανιχνευτή αφαιρούνται με αυστηρά βήματα πλύσης. Μετά την αντιχρώση του DNA με φθορίζουσα χρωστική DAPI, τα υβριδισμένα θραύσματα ανιχνευτή οπτικοποιούνται, χρησιμοποιώντας μικροσκόπιο φθορισμού εξοπλισμένο με φίλτρα διέγερσης και εκπομπής ειδικά για τα φθοροχρωματικά, με τα οποία έχουν επισημανθεί απευθείας τα θραύσματα ανιχνευτή FISH.

3. Παρεχόμενα αντιδραστήρια

Το **ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit** διατίθεται σε δύο μεγέθη και αποτελείται από τα εξής:

Κωδικός	Συστατικό	Ποσότητα		Δοχείο
		5	20	
PT1	<u>Heat Pretreatment Solution Citric</u>	150 ml	500 ml	Μπουκάλι με βιδωτό καπάκι (μεγάλο)
ES1	<u>Pepsin Solution</u>	1 ml	4 ml	Σταγονομετρικό φιαλίδιο, λευκό πώμα
WB1	<u>Wash Buffer SSC</u>	210 ml	560 ml	Μπουκάλι με βιδωτό καπάκι (μεγάλο)
WB2	<u>25x Wash Buffer A</u>	50 ml	2x 50 ml	Μπουκάλι με βιδωτό καπάκι (μεσαίο)
MT7	<u>DAPI/DuraTect-Solution</u>	0,2 ml	0,8 ml	Δοχείο αντίδρασης, μπλε πώμα
	Οδηγίες χρήσης	1	1	

Z-2028-5 (5 τεστ): Τα συστατικά **ES1** και **MT7** επαρκούν για 5 αντιδράσεις. Το συστατικό **WB2** επαρκεί για 5 x 3 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα. Το συστατικό **PT1** επαρκεί για 2 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα. Το συστατικό **WB1** επαρκεί για 3 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα.

Z-2028-20 (20 τεστ): Τα συστατικά **ES1** και **MT7** επαρκούν για 20 αντιδράσεις. Το συστατικό **WB2** επαρκεί για 11 x 3 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα. Το συστατικό **PT1** επαρκεί για 7 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα. Το συστατικό **WB1** επαρκεί για 8 δοχεία χρώσης των 70 ml το καθένα.

4. Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Ανιχνευτής **ZytoLight FISH**
- Δείγματα θετικών και αρνητικών μαρτύρων
- Πλακίδια μικροσκοπίου, θετικά φορτισμένα
- Υδατόλουτρο (37°C, 98°C)
- Υβριδιστής ή θερμαινόμενη πλάκα
- Υβριδιστής ή θάλαμος υγρασίας σε φούρνο υβριδισμού
- Ρυθμιζόμενες πιπέτες (10 µl, 25 µl)
- Δοχεία ή λουτρά χρώσης
- Χρονόμετρο
- Βαθμονομημένο θερμόμετρο
- Αιθανόλη ή αλκοόλη αντιδραστήριου
- Ξυλένιο
- Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό
- Καλυπτρίδες (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Ελαστικό τσιμεντοειδές, π.χ., Fixogum Rubber Cement (Αρ. Προϊόντος E-4005-50/-125) ή παρόμοιο
- Επαρκώς συντηρημένο μικροσκόπιο φθορισμού (400-1000x)
- Έλαιο εμβάπτισης εγκεκριμένο για μικροσκόπιο φθορισμού
- Κατάλληλα σερφίλτρων

5. Αποθήκευση και χειρισμός

Φυλάσσεται στους 2-8 °C σε όρθια θέση. Επιπλέον, το DAPI/DuraTect-Solution (**MT7**) πρέπει να αποθηκεύεται προστατευμένο από το φως. Επαναφέρετε στις συνθήκες αποθήκευσης αμέσως μετά τη χρήση. Μη χρησιμοποιείτε αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα. Το προϊόν είναι σταθερό μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα, εφόσον γίνεται ανάλογος χειρισμός.

6. Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

- Διαβάστε τις οδηγίες χρήσης πριν από τη χρήση!
- Μη χρησιμοποιείτε τα αντιδραστήρια μετά την ημερομηνία λήξης!
- Αυτό το προϊόν περιέχει ουσίες (σε χαμηλές συγκεντρώσεις και όγκους) που είναι επιβλαβείς για την υγεία. Αποφύγετε οποιαδήποτε άμεση επαφή με τα αντιδραστήρια. Λάβετε κατάλληλα προστατευτικά μέτρα (χρησιμοποιήστε γάντια μίας χρήσης, προστατευτικά γυαλιά και ρούχα εργαστηρίου)!
- Αναφέρετε κάθε σοβαρό περιστατικό που έχει συμβεί σχετικά με το προϊόν στον κατασκευαστή και την αρμόδια αρχή σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς!
- Εάν τα αντιδραστήρια έρθουν σε επαφή με το δέρμα, ξεπλύνετε αμέσως το δέρμα με άφθονη ποσότητα νερού!
- Κατόπιν αιτήματος διατίθεται για τον επαγγελματία χρήστη ένα δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού.
- Μην επαναχρησιμοποιείτε αντιδραστήρια, εκτός εάν η επαναχρησιμοποίηση επιτρέπεται ρητά!
- Αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση των δειγμάτων, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα.
- Τα δείγματα δεν πρέπει να αφήνονται να στεγνώσουν κατά τη διάρκεια των βημάτων υβριδισμού και πλύσης.
- Το **DAPI/DuraTect-Solution (MT7)** δεν πρέπει να εκτίθεται στο φως, ιδιαίτερα σε δυνατό φως, για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, δηλαδή όλα τα βήματα θα πρέπει να εκτελούνται, όπου είναι δυνατόν, στο σκοτάδι ή/και χρησιμοποιώντας φωτιστικές περιέκτες.

Ειδική επισημάνση του ES1:

EUH208	Περιέχει πεψίνη A. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική αντίδραση.
EUH210	Δελτίο δεδομένων ασφαλείας παρέχεται εφόσον ζητηθεί.

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης για τα PT1, WB1 και WB2:

Το συστατικό που προσδιορίζει τον κίνδυνο είναι μια μάζα αντίδρασης των εξής: 5-χλωρο-2-μεθυλο-4-ισοθειοαζολίνη-3-όνη [EK αρ. 247-500-7] και 2-μεθυλο-2H-ισοθειοαζολ-3-όνη [EK αρ. 220-239-6] (3:1).



Προειδοποίηση

H317	Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.
P261	Αποφεύγετε να αναπνεύετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρι α/σταγονίδια/ατμούς/εκνεφώματα.
P272	Τα μολυσμένα ενδύματα εργασίας δεν πρέπει να βγαίνουν από τον χώρο εργασίας.
P280	Φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα προστασίας ματιών/προσώπου.
P302+P352	ΣΕ ΠΕΡΙ ΠΤΩΣΗΣ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ: Πλύνετε με άφθονο νερό.
P333+P313	Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Λάβετε ιατρική συμβουλή/προσοχή.
P362+P364	Βγάλτε τα μολυσμένα ρούχα και πλύνετε τα πριν τα επαναχρησιμοποιήσετε.

Δηλώσεις επικινδυνότητας και προφύλαξης για το MT7:

Αυτό το προϊόν δεν ταξινομείται ως επικίνδυνο σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) Αρ. 1272/2008.

7. Περιορισμοί

- Για *in vitro* διαγνωστική χρήση.
- Μόνο για επαγγελματική χρήση.
- Μόνο για μη αυτοματοποιημένη χρήση.
- Η κλινική ερμηνεία οποιασδήποτε θετικής χρώσης ή απουσίας της πρέπει να γίνεται στο πλαίσιο του κλινικού ιστορικού, της μορφολογίας, άλλων ιστοπαθολογικών κριτηρίων καθώς και άλλων διαγνωστικών εξετάσεων. Είναι ευθύνη ενός ειδικευμένου παθολογοανατόμου/γενετιστή να είναι εξοικωμένος με τους ανιχνευτές υβριδισμού *in situ* (ISH), τα αντιδραστήρια, τα διαγνωστικά πάνελ και τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του χρωματισμένου παρασκευάσματος. Η χρώση πρέπει να πραγματοποιείται σε πιστοποιημένο, αδειοδοτημένο εργαστήριο υπό την επίβλεψη παθολογοανατόμου/γενετιστή που είναι υπεύθυνος για την επισκόπηση των χρωματισμένων πλακιδίων και τη διασφάλιση της επάρκειας των θετικών και αρνητικών μαρτύρων.
- Η χρώση του δείγματος, ειδικότερα η ένταση του σήματος και η χρώση του υποβάθρου, εξαρτώνται από τον χειρισμό και την επεξεργασία του δείγματος πριν από τη χρώση. Η ακατάλληλη στερέωση, ψύξη, απόψυξη, το πλύσιμο, στένγνωση, η θέρμανση, μύηση ή μόλυνση με άλλα δείγματα ή υγρά μπορεί να προκαλέσουν τεχνουργήματα ή ψευδή αποτελέσματα. Ασυμπεπαιστωμένα αποτελέσματα μπορεί να προκύψουν από διακυμάνσεις στις μεθόδους στερέωσης και ενσωμάτωσης, καθώς και από εγγενείς ανωμαλίες εντός του δείγματος.
- Η απόδοση επικυρώθηκε, χρησιμοποιώντας τις διαδικασίες που περιγράφονται στις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου ανιχνευτή και κιτ εφαρμογής ZytoVision. Τροποποιήσεις σε αυτές τις διαδικασίες ενδέχεται να αλλάξουν την απόδοση και πρέπει να επικυρωθούν από τον χρήστη. Αυτό το IVD (*in vitro* διαγνωστικό) προϊόν είναι πιστοποιημένο ως CE, μόνον όταν χρησιμοποιείται όπως περιγράφεται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης εντός του πεδίου της προβλεπόμενης χρήσης.

8. Παρεμβάλλουσες ουσίες

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια που υπάρχουν στο δείγμα ενδέχεται να εμφανίζουν αυτοφθορισμό που εμποδίζει την αναγνώριση σήματος.

Τα ακόλουθα σταθεροποιητικά δεν είναι συμβατά με το FISH (*in situ* φθορισμό υβριδισμού):

- Σταθεροποιητικό Bouin
- B5 σταθεροποιητικό
- Όξινα σταθεροποιητικά (π.χ. πικρικό οξύ)
- Σταθεροποιητικό Zenker
- Αλκοόλες (όταν χρησιμοποιούνται μόνες τους)
- Χλωριούχος υδράργυρος
- Σταθεροποιητικό φορμαλδεΰδης/ψευδαργύρου
- Σταθεροποιητικό Hollande
- Μη ρυθμισμένη φορμαλίνη

9. Προετοιμασία δειγμάτων

Συστάσεις:

- Σταθεροποίηση σε 10% ουδέτερα ρυθμισμένη φορμαλίνη για 24 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου (18-25°C).
- Μέγεθος δείγματος $\leq 0,5 \text{ cm}^3$.
- Χρησιμοποιήστε παραφίνη εξαιρετικής ποιότητας.
- Η ενσωμάτωση πρέπει να πραγματοποιείται σε θερμοκρασίες χαμηλότερες από 65°C.
- Προετοιμάστε τομές μικροτόμου 2-4 μm .
- Χρησιμοποιήστε θετικά φορτισμένα πλακίδια μικροσκοπίου.
- Σταθεροποιήστε για 2-16 ώρες στους 50-60°C.



10. Προπαρασκευαστική επεξεργασία της συσκευής

Το 25x Wash Buffer A (WB2) πρέπει να υποβάλλεται σε προεπεξεργασία σύμφωνα με τις οδηγίες στο κεφάλαιο 11.2 "Διαδικασία ανάλυσης - Ημέρα 2". Όλα τα άλλα αντιδραστήρια του κιτ είναι έτοιμα για χρήση. Δεν απαιτείται ανασύσταση, ανάμειξη ή αραιώση.

11. Διαδικασία ανάλυσης

11.1 Ημέρα 1

Προπαρασκευαστικά βήματα

- 1. Προετοιμάστε μια σειρά με αιθανόλη (διαλύματα αιθανόλης 70%, 90% και 100%). Αραιώστε 100% αιθανόλη με απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό. Τα διαλύματα αυτά μπορούν να αποθηκευτούν στους κατάλληλους περιέκτες και να επαναχρησιμοποιηθούν.
- 2. Heat Pretreatment Solution Citric (PT1): Θερμάνετε στους 98°C.
- 3. Wash Buffer SSC (WB1): Φέρτε το σε θερμοκρασία δωματίου. Το **WB1** ενδέχεται να σχηματίσει ιζήματα στους 2-8°C, τα οποία, ωστόσο, δεν επηρεάζουν την ποιότητα και διαλύονται όταν θερμανθούν.
- 4. Ανιχνευτής ZytoLight FISH: Πριν από τη χρήση, φέρτε το σε θερμοκρασία δωματίου, προστατέψτε το από το φως.

Προαιρετικό, όταν εκτελείται το βήμα μεταγενέστερης σταθεροποίησης:

(συνιστάται έντονα εάν η σταθεροποίηση των ιστών δεν είναι η βέλτιστη)

Προετοιμάστε ένα διάλυμα φορμαλδεΐδης 1% χρησιμοποιώντας το Formaldehyde Dilution Buffer Set (PT-0006-100)

Προεπεξεργασία (αποκλήρωση/πρωεόλυση)

- 1. Επώστε τα πλακίδια για 10 λεπτά στους 70°C (π.χ. επάνω σε μια καυτή πλάκα).
- 2. Επώστε τα πλακίδια 2 φορές από 10 λεπτά μέσα σε ξυλένιο.
- 3. Επώστε σε αιθανόλη 100%, 100%, 90% και 70%, έκαστο για 5 λεπτά.
- 4. Πλύνετε 2 φορές από 2 λεπτά σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.
- 5. Επώστε για 15 λεπτά σε προθερμασμένο Heat Pretreatment Solution Citric (PT1) στους 98°C.

Συνιστούμε να μην χρησιμοποιείτε περισσότερα από 8 πλακίδια ανά δοχείο χρώσης.

- 6. Μεταφέρετε αμέσως τα πλακίδια σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό, πλύνετε από 2 φορές για 2 λεπτά και στραγγίξτε ή τινάξτε το νερό για να φύγει.
- 7. Εφαρμόστε (στάγδην) Pepsin Solution (ES1) στα δείγματα και επώστε για 15 λεπτά στους 37°C σε θάλαμο υγρασίας.

Το **ES1** ενδέχεται να σχηματίσει ιζήματα, τα οποία, ωστόσο, δεν επηρεάζουν την ποιότητα.

Ανάλογα με πολλούς και διάφορους παράγοντες όπως π.χ. η φύση και η διάρκεια της σταθεροποίησης, το πάχος των τομών, και η φύση των ιστών/κυττάρων, ενδέχεται να απαιτούνται διαφορετικοί χρόνοι επώσης. Ως κατευθυντήρια οδηγία για την επώση, συνιστούμε έναν χρόνο επώσης των 2-30 λεπτών για δείγματα ιστών και 2 έως 15 λεπτών για δείγματα κυττάρων. Ως γενικό κανόνα, συνιστούμε να εξακριβώνεται ο βέλτιστος χρόνος για πρωεόλυση σε προδοκιμές.

- 8. Πλύνετε για 5 λεπτά σε Wash Buffer SSC (WB1).

Προαιρετικό, όταν εκτελείται το βήμα μεταγενέστερης σταθεροποίησης:

Επώστε τα πλακίδια για 15 λεπτά σε 1% διάλυμα φορμαλδεΐδης και κατόπιν πλύνετε τα για 5 λεπτά μέσα σε Wash Buffer SSC (WB1)

- 9. Πλύνετε για 1 λεπτό σε απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό.
- 10. Αφυδάτωση: σε αιθανόλη 70%, 90% και 100%, έκαστο για 1 λεπτό.
- 11. Στεγνώστε τα μέρη με στεγνό αέρα.

Σημείωση: Βεβαιωθείτε ότι στεγνώσατε πλήρως τα μέρη προτού χρησιμοποιήσετε τον ανιχνευτή, καθώς η υπολειπόμενη υγρασία ενδέχεται να μειώσει την ένταση των σημάτων ή/και να επηρεάσει τη μορφολογία των ιστών.

Μετουσίωση και υβριδισμός

- 1. Μεταφέρετε με πιπέττα 10 μl περιεχομένου του ZytoLight FISH Probe σε κάθε προεπεξεργασμένο δείγμα.

Αποφύγετε την παρατεταμένη έκθεση του ανιχνευτή στο φως.

- 2. Καλύψτε τα δείγματα με καλυπτρίδα 22 mm x 22 mm (αποφύγετε τις παγιδευμένες φυσαλίδες) και σφραγίστε την καλυπτρίδα.

Συνιστούμε τη χρήση ελαστικού τσιμεντοειδούς (π.χ. Fixogum Rubber Cement) για τη σφράγιση.

- 3. Τοποθετήστε τα πλακίδια σε θερμή πλάκα ή υβριδιστή και μετουσίωση τα δείγματα για 10 λεπτά στους 75°C.
- 4. Μεταφέρετε τα πλακίδια σε θάλαμο υγρασίας και υβριδοποιήστε όλη τη νύχτα στους 37°C (π.χ. σε φούρνο υβριδισμού).

Είναι σημαντικό τα δείγματα ιστών/κυττάρων να μη στεγνώνουν κατά τη διάρκεια του υβριδισμού.

11.2 Ημέρα 2

Προπαρασκευαστικά βήματα

- 1. Προετοιμασία 1x Wash Buffer A: Αραιώστε 1 μέρος 25x Wash Buffer A (WB2) σε 24 μέρη απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό. Γεμίστε τρία δοχεία χρώσης με 1x Wash Buffer A και προθερμάνετε στους 37°C.

Το αραιωμένο 1x Wash Buffer A είναι σταθερό για μία εβδομάδα όταν αποθηκεύεται στους 2-8°C.

- 2. DAPI/DuraTect-Solution (MT7): Πριν από τη χρήση, φέρτε το σε θερμοκρασία δωματίου και προστατέψτε το από το φως.

Μετα-υβριδισμός και ανίχνευση

- 1. Αφαιρέστε προσεκτικά το ελαστικό τσιμεντοειδές ή την κόλλα.
- 2. Αφαιρέστε την καλυπτρίδα βυθίζοντας τα πλακίδια σε 1x Wash Buffer A στους 37 βαθμούς Κελσίου για 1 έως 3 λεπτά.
- 3. Πλύνετε τα πλακίδια για 2 φορές από 5 λεπτά σε 1x Wash Buffer A στους 37°C.

Το 1x Wash Buffer A θα πρέπει να προθερμαίνεται. Εάν είναι απαραίτητο, ελέγξτε με τη χρήση θερμόμετρου.

- 4. Επώστε τα πλακίδια σε αιθανόλη 70%, 90% και 100%, έκαστο για 1 λεπτό.
- 5. Στεγνώστε τα δείγματα προστατευμένα από το φως.
- 6. Μεταφέρετε με πιπέττα 25 μl DAPI/DuraTect-Solution (MT7) στα πλακίδια. Αποφεύγοντας τις παγιδευμένες φυσαλίδες, καλύψτε τα δείγματα με καλυπτρίδα (24 mm x 60 mm). Επώστε στο σκοτάδι για 15 λεπτά.

Με τη χρήση ενός στόμιου πιπέττας που έχει κοπεί για να αυξηθεί το μέγεθος του ανοίγματος μπορεί να διευκολυνθεί η διαδικασία της πιπέττας. Αποφύγετε την παρατεταμένη έκθεση στο φως.

- 7. Αποθηκεύστε το πλακίδιο στο σκοτάδι. Για μεγαλύτερες περιόδους αποθήκευσης, αυτό πρέπει να γίνεται στους 2-8°C.
- 8. Η αξιολόγηση του υλικού του δείγματος πραγματοποιείται με μικροσκόπιο φθορισμού. Ενδέχεται να είναι απαραίτητα τα εξής φίλτρα για το εξής εύρος μήκους κύματος:

Φθορίζουσα χρωστική	Διέγερση	Εκπομπή
ZyBlue	418 nm	467 nm
ZyGreen	503 nm	528 nm
ZyGreen 2.0	493 nm	518 nm
ZyGold	532 nm	553 nm
ZyOrange	547 nm	572 nm
ZyRed	580 nm	599 nm



12. Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Με τη χρήση των κατάλληλων φίλτρων, σε ενδιάμεσες φάσεις ή μεταφάσεις φυσιολογικών κυττάρων ή κυττάρων χωρίς παρεκκλίσεις των εξεταζόμενων χρωμοσωμάτων, θα εμφανιστούν δύο σήματα ανά ανιχνευτή/επισήμανση με φθορισμό, εκτός από τους ανιχνευτές που στοχεύουν στα χρωμοσώματα Χ ή/και Υ, με αποτέλεσμα κανένα έως δύο σήματα ανά ανιχνευτή/ανά επισημάνση με φθορισμό, ανάλογα με το φύλο. Σε κύτταρα με χρωμοσωμικές παρεκκλίσεις, ενδέχεται να είναι ορατό ένα διαφορετικό μοτίβο σήματος, σε ενδιάμεσες φάσεις ή μεταφάσεις. Για περισσότερες λεπτομέρειες σχετικά με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων, παρακαλούμε να ανατρέξετε στις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου ανιχνευτή.

13. Συνιστώμενες διαδικασίες ποιτικού ελέγχου

Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου ανιχνευτή ZytoVision.

14. Χαρακτηριστικά απόδοσης

Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου ανιχνευτή ZytoVision.

15. Απόρριψη

Η απόρριψη των αντιδραστηρίων πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς.

16. Αντιμετώπιση προβλημάτων

Οποιοδήποτε απόκλιση από τις οδηγίες λειτουργίας μπορεί να οδηγήσει σε κατώτερα αποτελέσματα χρώσης ή σε καθόλου χρώση. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στη διεύθυνση www.zytovision.com.

Αδύναμα σήματα ή καθόλου σήματα

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Το δείγμα κυττάρου ή ιστού δεν έχει στερεωθεί σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο στερέωσης και το σταθεροποιητικό ή εφαρμόστε ένα βήμα μετά τη στερέωση, όπως περιγράφεται στη «διαδικασία ανάλυσης» του εγχειριδίου του ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία δεν πραγματοποιήθηκε σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης, αυξήστε ή μειώστε εάν είναι απαραίτητο
Εξάτμιση ανιχνευτή	Όταν χρησιμοποιείτε υβριδιστή, είναι υποχρεωτική η χρήση των υγρών λωρίδων/γεμάτων με νερό δεξαμενών. Όταν χρησιμοποιείτε φούρνο υβριδισμού, απαιτείται η χρήση ενός θαλάμου υγρασίας. Επιπλέον, η καλυπτρίδα θα πρέπει να σφραγίζεται πλήρως, π.χ. με Fixogum, για να αποφευχθεί η ξήρανση του δείγματος κατά τον υβριδισμό.
Χρησιμοποιούνται ακατάλληλα σετ φίλτρων	Χρησιμοποιήστε σετ φίλτρων κατάλληλα για τα φθοροχρωματικά του ανιχνευτή. Τα σετ φίλτρων τριπλής ζώνης παρέχουν λιγότερο φως σε σύγκριση με τα σετ φίλτρων μονής ή διπλής ζώνης. Κατά συνέπεια, τα σήματα μπορεί να φαίνονται πιο αμυδρά, εάν χρησιμοποιείτε αυτά τα σετ φίλτρων τριπλής ζώνης.

Διασταυρούμενα σήματα υβριδισμού· θορυβώδης υπόβαθρο

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Ατελής αποκλήρωση	Χρησιμοποιήστε φρέσκα διαλύματα· ελέγξτε τη διάρκεια της αποκλήρωσης
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία είναι πολύ ισχυρή	Μειώστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης
Τα πλακίδια ψύχονται σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τον υβριδισμό	Μεταφέρετε τα πλακίδια γρήγορα στους 37 °C

Υποβαθμισμένη μορφολογία

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Το δείγμα κυττάρου ή ιστού δεν έχει στερεωθεί σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο στερέωσης και το σταθεροποιητικό ή εφαρμόστε ένα βήμα μετά τη στερέωση, όπως περιγράφεται στη «διαδικασία ανάλυσης» του εγχειριδίου του ZytoLight FISH-Tissue Implementation Kit
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία δεν πραγματοποιήθηκε σωστά	Βελτιστοποιήστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης, μειώστε εάν είναι απαραίτητο
Ανεπαρκές στέγνωμα πριν από την εφαρμογή του ανιχνευτή	Επεκτείνετε το στέγνωμα στον αέρα

Αλληλεπικαλυπτόμενοι πυρήνες

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Ακατάλληλο πάχος τομών ιστού	Προετοιμάστε τομές με κροτόμου 2-4 μm

Το δείγμα επιπλέει στο πλακίδιο

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Η πρωτεολυτική προεπεξεργασία είναι πολύ ισχυρή	Μειώστε τον χρόνο επώασης της πεψίνης

Αδύναμη αντίχρωση

Πιθανή αιτία	Ενέργεια
Χαμηλής συγκέντρωσης διάλυμα φθορίζουσας χρωστικής DAPI	Αντί αυτού, χρησιμοποιήστε DAPI/DuraTect-Solution (ultra) (Αρ. Προϊόντος MT-0008-0.8)
Ο χρόνος επώασης της φθορίζουσας χρωστικής DAPI είναι πολύ μικρός	Προσαρμόστε τον χρόνο επώασης της φθορίζουσας χρωστικής DAPI

17. Βιβλιογραφία

- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* **53**: 134-6.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, *Oxford University Press* (1992) ISBN 0 19 963327 4.

18. Αναθεώρηση

Αναθεώρηση	Περιγραφή της αλλαγής
1.2.1	11. Διαδικασία ανάλυσης Προστέθηκε το ZyGreen 2.0



www.zytovision.com

Ανατρέξτε στη διεύθυνση www.zytovision.com για τις πιο πρόσφατες οδηγίες χρήσης καθώς και για οδηγίες χρήσης σε διάφορες γλώσσες.

Οι ειδικοί μας είναι πρόθυμοι να απαντήσουν στις ερωτήσεις σας.

Επικοινωνήστε στη διεύθυνση helptech@zytovision.com



ZytoVision GmbH

Fischkai 1

27572 Bremerhaven / Γερμανία

Τηλέφωνο: +49 471 4832-300

Φαξ: +49 471 4832-509

www.zytovision.com

E-Mail: info@zytovision.com

Εμπορικά σήματα:

Τα ZytoVision® και ZytoLight® είναι εμπορικά σήματα της ZytoVision GmbH.