



ZytoDot CISH Implementation Kit

REF C-3018-40

Σ 40

Kromogén *in situ* hibridizációs (CISH) eljárásokban való
használatra

4250380N397Z



In vitro diagnosztikai orvosi eszköz

IVDR (EU) 2017/746 szerint

1. Javasolt alkalmazás

A ZytoDot CISH Implementation Kit Digoxigeninnel jelölt ZytoDot próbákkal kombinálva használható formalinban rögzített, paraffinba ágyazott mintákon kromogén *in situ* hibridizációval (CISH).

A termék kizárólag professzionális használatra készült. A termékkel végzett valamennyi vizsgálatot minősített, engedéllyel rendelkező anatómiai patológiai laboratóriumban, patológus/humángenetikus felügyelete mellett, szakképzett személyzetnek kell elvégeznie.

2. A vizsgálat elve

A kromogén *in situ* hibridizációs (CISH) technika lehetővé teszi specifikus nukleinsav-szekvenciák kimutatását és vizualizálását sejtkezítményekben. Hapten-jelölt nukleotidfragmentumok, úgynevezett CISH-szondák és a preparátumokban lévő komplementer célszekvenciák együttesen denaturálódnak, majd a hibridizáció során hagyják, hogy egymáshoz kapcsolódjanak. Ezt követően a nem specifikus és nem kötött szondafragmentumokat szigorú mosási lépésekkel távolítják el. A jelölt szonda duplexképződése elsődleges (nem jelölt) antitestekkel láthatóvá tehető, amelyeket másodlagos polimerizált enzimkonjugált antitestekkel detektálunk. Az enzimatis reakció kromogén szubsztátokkal színes csapadékok képződéséhez vezet. A sejtmag nukleáris festékekkel történő ellenfestése után a hibridizált szondafragmentumok fénymikroszkópiával láthatóvá válnak.

3. Rendelkezésre bocsátott reagensek

A ZytoDot CISH Implementation Kit egy méretben kapható, és a következőkből áll:

Kód:	Komponens	Mennyiség	Konténer
		Σ 40	
PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	500 ml	Csavaros kupakos üveg (nagy)
ES1	Pepsin Solution	4 ml	Cseppentős üveg, fehér kupakkal
WB1	Wash Buffer SSC	560 ml	Csavaros kupakos üveg (nagy)
WB4	PBS/Tween	2x	Alumínium csomag
BS1	Blocking Solution	4 ml	Cseppentős üveg, narancssárga kupakkal
AB1	Mouse Anti-Dig	4 ml	Cseppentős üveg, rózsaszín kupakkal
AB2	Anti-Mouse-HRP-Polymer	4 ml	Cseppentős üveg, lila kupakkal
SB1a	DAB Solution A	0.3 ml	Cseppentős üveg, zöld kupakkal
SB1b	DAB Solution B	10 ml	Cseppentős üveg, szürke kupakkal
CS1	Mayer's Hematoxylin Solution	20 ml	Csavaros kupakos üveg, fekete
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	Üvegpalack, barna
	Használati utasítás	1	

C-3018-40 (40 vizsgálat): ES1, BS1, AB1, AB2, SB1a-b, CS1 és MT4 összetevők 40 reakcióhoz elegendőek. A PT2 komponens 7 darab, egyenként 70 ml-es festőedényhez elegendő. A WB1 komponens 8 darab, egyenként 70 ml-es festőedényhez elegendő. A WB4 komponens 28 darab, egyenként 70 ml-es festőedényhez elegendő.

4. Szükséges, de nem biztosított anyagok

- ZytoDot CISH Probe
- Pozitív és negatív kontrollminták
- Mikroszkópos tárgylemezek, pozitív töltésű
- Vízfürdő (80 °C, 98 °C)
- Hibridizáló vagy fűzőlap
- Hibridizáló vagy pára kamra a hibridizációs kemencében
- Állítható pipetták (10 µl, 1000 µl)
- Festőedények vagy fürdők
- Időzítő
- Kalibrált hőmérő
- Etanol vagy reagens alkohol
- Xilol
- Metanol 100%
- Hidrogén-peroxid (H₂O₂) 30%
- Deionizált vagy desztillált víz
- fedőlemezek (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Gumicement, pl. Fixogum Rubber Cement (Prod. No. E-4005-50/-125) vagy hasonló.
- Megfelelően karbantartott fénymikroszkóp (400-630x)

5. Tárolás és kezelés

Tárolása 2-8 °C-on, függőleges helyzetben. Felhasználást követően azonnal a tárolási feltételek alkalmazandóak. Ne használja a reagenseket a címkén feltüntetett lejárati időn túl. A termék a címkén feltüntetett lejárati ideig őrzi meg stabilitását megfelelően kezelés mellett.

6. Figyelmeztetések és óvintézkedések

- Használat előtt olvassa el a használati utasítást!
- Ne használja a reagenseket a lejárati idő letelte után!
- Ez a termék olyan anyagokat tartalmaz (kis koncentrációban és térfogatban), amelyek az egészségre károsak és potenciálisan fertőzőek. Kerülje a közvetlen érintkezést a reagensekkel. Tegyen megfelelő védőintézkedéseket (használjon eldobható kesztyűt, védőszemüveget és laboratóriumi öltözetet)!

- Jelentsen a gyártónak és az illetékes hatóságnak a termékkel kapcsolatban minden súlyos eseményt a helyi előírásoknak megfelelően!
- Ha a reagens bőrrel érintkezik, azonnal öblítse le bő vízzel!
- Foglalkozásszerű felhasználók részére igény esetén anyagbiztonsági adatlapot biztosítunk.
- Ne használja fel újra a termékeket, kivéve, ha az újrafelhasználás kifejezetten engedélyezett!
- A minták keresztszennyeződését kerülni kell, mert ez hibás eredményhez vezethet.
- A hibridizáció és a mosás során a mintákat nem szabad kiszárítani.

Veszély- és óvintézkedési nyilatkozatok az BS1, AB1, AB2, PT2, és WB1 esetében:

A veszélyt meghatározó komponens a reakciótömeg: EK-szám: 247-500-7] és 2-metil-2H-izotiazol-3-on [EK-szám: 220-239-6] (3:1).



Figyelem

H317	Allergiás bőrreakciót válthat ki.
P261	Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését.
P272	Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről.
P280	Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem/... használata kötelező.
P302+P352	HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő vízzel
P333+P313	Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni.
P362+P364	A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni.

Veszély- és óvintézkedési nyilatkozatok az SB1a-re vonatkozóan:

A veszélyt meghatározó komponens a bifenil3-,3',4,4'-tetrailtetraamin; diaminobenzidín.



Veszély

H350	Rákot okozhat.
P201	Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat.
P202	Ne használja addig, amíg az összes biztonsági óvintézkedést el nem olvasta és meg nem értette.
P280	Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem/... használata kötelező.
P308+P313	Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.
P405	Elzárva tárolandó.

Veszély- és óvintézkedési nyilatkozatok az SB1b-re vonatkozóan:

A veszélyt meghatározó összetevő az imidazol; a reakciótömeg: 247-500-7] és 2-metil-2H-izotiazol-3-on [EK-szám: 220-239-6] (3:1):



Veszély

H317	Allergiás bőrreakciót válthat ki.
H360D	Károsíthatja a születendő gyermeket.
P201	Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat.
P261	Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését.
P280	Viseljen védőkesztyűt/védő ruházatot/szemvédőt/arcvédőt.
P302+P352	HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő vízzel/.....
P308+P313	Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni.
P362+P364	A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni.

Veszély- és óvintézkedési nyilatkozatok az MT4-re vonatkozóan:

A veszélyt meghatározó összetevő a xilol.



Figyelem

H226	Tűzveszélyes folyadék és gőz.
H312+H332	Bőrrel érintkezve vagy belélegezve ártalmas
H315	Bőrirritáló hatású.
H319	Súlyos szemirritációt okoz.
H335	Légúti irritációt okozhat.
H373	Ismétlődő vagy hosszabb expozíció esetén károsíthatja a szerveket.
P210	Hőtől, forró felületektől, szikrától, nyílt lángtól és más gyújtóforrástól távol tartandó. Tilos a dohányzás.
P260	A por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzése tilos.
P280	Védőkesztyű/védőruha és szemvédő/arcvédő használata kötelező.
P305+P351+P338	SEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása.
P337+P313	Ha a szemirritáció nem múlik el: orvosi ellátást kell kérni.
P403+P235	Jól szellőző helyen tárolandó. Hűvös helyen tartandó.
EUH208	Metil-metakrilát; Metil 2-metilprop-2-enoát; Metil 2-metilpropenoát, Butil-metakrilát-t tartalmaz. Allergiás reakciót válthat ki.

Veszély- és óvintézkedési nyilatkozatok az CS1 és WB4 esetében:

Ez a próba az 1272/2008/EK rendelet szerint nem minősül veszélyesnek.

Az ES1 speciális címkézése:

EUH208	pepsin A-t tartalmaz. Allergiás reakciót válthat ki.
EUH210	Kérésre biztonsági adatlap kapható..

7. Korlátozások

- *In vitro* diagnosztikai használatra.
- Csak szakképzett felhasználók részére.
- Csak nem-automatizált használatra.
- Bármely pozitív festődés vagy annak hiánya esetén, a klinikai interpretációt a klinikai anamnézis, a morfológia, az egyéb kórszövettani kritériumok, valamint az egyéb diagnosztikai tesztek összefüggésében kell elvégezni. A szakképzett patológus/humángenetikus felelőssége, hogy ismerje az ISH-próbákat, reagenseket, diagnosztikai paneleket és a festett készítmény előállításához használt módszereket. A festést minősített, engedéllyel rendelkező laboratóriumban kell elvégezni patológus/humángenetikus felügyelete mellett, aki a festett tárgylemezek áttekintéséért és a pozitív és negatív kontrollok biztosításáért is felelős.
- A minta festése, különösen a jelintenzitás és a háttérfestés erőssége a festést megelőző mintakezeléstől és feldolgozástól függ. A minta nem megfelelő fixálása, fagyasztása, felolvasztása, mosása, szárítása, melegítése, metszése vagy más mintákkal és folyadékokkal való keresztszennyezése műtermékek vagy hamis eredmények kialakulásához vezethet. Ellentmondó eredmények eredhetnek a minta rögzítési és beágyazási eltéréseiből, valamint magában a mintában rejlő egyenlőtlen feltételekből.
- A teljesítmény érvényesítése a jelen használati útmutatóban leírt eljárásokkal történt. Ezen eljárások módosítása megváltoztathatja a teljesítményt, és ezeket a felhasználónak ellenőriznie kell. Ez az IVD csak akkor rendelkezik CE-tanúsítvánnyal, ha az ebben az útmutatóban leírtak szerint használják, a rendeltetésszerű használat keretein belül.

8. Interferenciát kiváltó anyagok

A következő fixálószer nem kompatibilisek az ISH-val:

- Bouin-fixálószer
- B5 fixálószer
- savas fixálószer (pl. pikrinsav)
- Zenker-fixálószer
- Alkoholak (önmagukban használva)
- Higany-klorid
- Formaldehid/cink fixálószer
- Hollandi fixálója
- Nem pufferelt formalin.

9. A minták előkészítése

Ajánlások:

- Kerülje a minták keresztszennyeződését, mivel ez hibás eredményekhez vezethet.
- Fixálás 10% semleges pufferelt formalinban 24 órán keresztül szobahőmérsékleten (RT, 18°C-25°C).
- Mintaméret $\leq 0,5 \text{ cm}^3$
- Használjon prémium minőségű paraffint.
- A beágyazást 65 °C-nál alacsonyabb hőmérsékleten kell végezni.
- Készítsen 3-5 μm -es mikrotomos metszeteket.
- Használjon pozitív töltésű tárgylemezeket.
- Fixáljuk a szövetszelvényeket 2-16 órán át 50-60 °C-on.

10. A reagens előkészítése

A PBS/Tween (WB4) előkezelést a 11. pontban leírtak szerint kell elvégezni. „Assay procedure” (Vizsgálati eljárás). Az összes többi reagens készlet felhasználásra kész. Nincs szükség rekonstitúcióra, keverésre vagy hígításra.

11. Vizsgálati eljárás

11.1 1. nap

Előkészítő lépések

- (1) *Készítsünk etanol-sorozatot (70%-os, 90%-os és 100%-os etanolos oldatok): Hígítsuk fel a 100%-os etanolt ionmentesített vagy desztillált vízzel. Ezek az oldatok megfelelő tartályokban tárolhatók és újra felhasználhatók.*

- (2) *Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2): Melegítse 98 °C-ra egy lefedett festőedénybe.*
- (3) *3%-os H₂O₂ előkészítése: Hígítson fel 1 rész 30% H₂O₂-t 9 rész 100%-os metanolban..*
- (4) *ZytoDot CISH szonda: Használat előtt hozza szobahőmérsékletre..*

Pretreatment (dewax/proteolysis)

- (1) Inkubáljuk a tárgylemezeket 10 percig 70°C-on (pl. forró lemezen).
- (2) Inkubáljuk a tárgylemezeket 2x 5 percig xilolban.
- (3) Inkubáljuk a tárgylemezeket 3x 3 percig 100%-os etanolban.
- (4) Inkubáljuk a tárgylemezeket 5 percig 3%-os H₂O₂-ben..
- (5) Mossuk a tárgylemezeket 2x 1 percig deionizált vagy desztillált vízben.
- (6) Inkubáljuk 15 percig 98°C-on előmelegített Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2) -ban.

Használjon nyolc tárgylemezt festőedényenként (szükség esetén adjon hozzá műlemezeket).

- (7) Azonnal helyezze át a tárgylemezeket deionizált vagy desztillált vízbe, és mossa 2x 2 percig.
- (8) Vigyen fel (cseppenként) Pepsin Solution (ES1) a mintára, és inkubálja 5-15 percig 37°C-on, pára kamrában.

*Az **ES1** csapadékot képezhet, amely nem befolyásolja a minőséget. Általános szabályként javasoljuk, hogy a proteolízis optimális idejét elővizsgálatokban állapítsa meg.*

- (9) Merítse a tárgylemezeket deionizált vagy desztillált vízbe.
- (10) Dehidratálás in: 70%-os, 90%-os és 100%-os etanolban, egyenként 1 percig.
- (11) Légszárítás a metszeteken.

Megjegyzés: Ügyeljen arra, hogy a szondák felhelyezése előtt a metszetek teljesen megszáradjanak.

Denaturáció és hibridizáció

- (1) Pipettázzon 10 μl ZytoDot CISH Probe-t minden előkezelt mintára.
- (2) Fedje le a mintákat egy 22 mm x 22 mm-es fedőlappal (kerülje a beszorult buborékokat), és zárja le a fedőlapot.

A lezáráshoz gumicement (pl. Fixogum) használatát javasoljuk.

- (3) Helyezze a tárgylemezeket forró lemezre vagy hibridizátorra, és denaturálja a mintákat 5 percig 94-95 °C-on.
- (4) Vigye át a tárgylemezeket egy pára kamrába, és hibridizáljon egy éjszakán át 37°C-on (pl. hibridizációs kemencében)).

Lényeges, hogy a minták ne száradjanak ki a hibridizációs lépés során.

11.2 2. nap

Előkészítő lépések

- (1) *Wash Buffer SSC (WB1): A szigorított mosáshoz melegítse 80 °C-ra egy lefedett festőedényben. A WB1 2-8°C-on csapadékot képezhet, amely nem befolyásolja a minőséget, és melegítéskor fel kell oldódnia.*
- (2) *A Wash Buffer PBS/Tween mosópuffer elkészítése: Adjon 1 tablettát PBS/Tween (WB4) 1000 ml deionizált vagy desztillált vízhez, és oldja fel.*

A Wash Buffer PBS/Tween 2-8°C-on tárolva egy hétig stabil.

- (3) Blocking Solution (BS1), Mouse-Anti-DIG (AB1), Anti-Mouse-HRP-Polymer (AB2), DAB Solution A (SB1a), DAB Solution B (SB1b), Mayer's Hematoxylin Solution (CS1), Mounting Solution (alcoholic) (MT4): Használat előtt hozza szobahőmérsékletre.

Hibridizálás és detektálás

- (1) Óvatosan távolítsa el a gumicementet vagy a ragasztót.
- (2) Távolítsa el a fedőlemezt úgy, hogy a tárgylemezeket 5 percre szobahőmérsékleten Wash Buffer SSC (WB1) mosópufferbe meríti.

A WB1 egyszer újra felhasználható. Tárolja 2-8 °C-on legfeljebb egy hétig.

- (3) Mossuk a tárgylemezeket 5 percig 80°C-on Wash Buffer SSC (WB1) mosópufferben.

Használjon nyolc tárgylemezt festőedényenként (szükség esetén adjon hozzá műtárgylemezeket).

- (4) Mossuk a tárgylemezeket 2x 1 percig deionizált vagy desztillált vízben.
- (5) Merítse a tárgylemezeket Wash Buffer PBS/Tween pufferbe.
- (6) Vigyen fel Blocking Solution (BS1) (1-2 cseppel tárgylemezenként) a tárgylemezekre, és inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten.
- (7) Blotolja le a Blocking Solution (BS1), **de ne öblítse le!**
- (8) Vigyen fel Mouse-Anti-DIG (AB1) (1-2 cseppel tárgylemezenként) a tárgylemezekre, és inkubálja 30 percig szobahőmérsékleten.
- (9) Mossuk a tárgylemezeket 3x 1 percig PBS/Tween.



- (10)

Vigyen fel Anti-Mouse-HRP-Polymer (AB2) (1-2 cseppet tárgylemezenként) a tárgylemezre, és inkubálja 30 percig szobahőmérsékleten.
- (11)

Mossuk a tárgylemezeket 3x 1 percig PBS/Tween.
- (12)

Készítsünk DAB Solution (munkaoldat): töltsünk 1 ml DAB Solution B (SB1b) oldatot egy mérőpohárba, és adjunk hozzá egy csepp (30 µl) DAB Solution A (SB1a) oldatot. Jól keverjük össze.
- (13)

Vigyen fel DAB Solution (1-2 cseppet tárgylemezenként) a tárgylemezre, és inkubálja 30 percig szobahőmérsékleten.
- (14)

Helyezze át a tárgylemezeket festőedénybe, és mossa le 2 percig hideg folyó csapvíz alatt.
- (15)

Ellenfestjük a mintákat 5-10 másodpercig Mayer's Hematoxylin Solution (CS1) oldattal.
- (16)

Helyezze át a tárgylemezeket festőedénybe, és mosson 2 percig hideg folyó csapvíz alatt.
- (17)

Dehidratálás a következőben: 70%-os, 90%-os és 100%-os etanolban, egyenként 1 percig.
- (18)

Inkubáljuk a tárgylemezeket 2x 2 percig xilolban (használjunk nagyon tiszta xilolt).
- (19)

A beszorult buborékok elkerülése mellett fedőlemezzel (22 mm x 22 mm; 24 mm x 32 mm) fedjük le a mintákat a Mounting Solution (alcoholic) (MT4) használatával. Hagyjon 20-30 percet, amíg a fedőlap immobilizálódik.

A pipettázás megkönnyíthető egy olyan pipettahegy használatával, amelyet a nyílás méretének növelése érdekében levágtak.

- (20)

Értékelje a festett mintákat fénymikroszkópiával.

12. Az eredmények kiértékelése

A ZytoDot CISH Implementation Kit használatával a digoxigeninnel jelölt polinukleotidok hibridizációs jelei barna vagy sötétbarna színű, elkülönülő pontok formájában jelennek meg. Normális sejtek vagy a vizsgált kromoszómák aberrációit nem mutató sejtek interfázisaiban vagy metafázisaiban célpontonként két jel jelenik meg, kivéve az X vagy Y kromoszómákat célzó szondákat, amelyek a nemtől és a használt szondától függően két, egy vagy egy jelet eredményeznek. A kromoszómaaberrációkkal rendelkező sejtekben az interfázisokban vagy metafázisokban eltérő jelmintázat lehet látható. Az eredmények értelmezésével kapcsolatos további részletekért kérjük, olvassa el a megfelelő ZytoDot CISH Probe használati utasítását.

13. Ajánlott minőségellenőrzési eljárások

Olvassa el a megfelelő ZytoVision próba használati utasítását.

14. Teljesítményjellemzők

Olvassa el a megfelelő ZytoVision próba használati utasítását.

15. Eltávolítás

A reagensek hulladékként történő elhelyezését az országos szabályozásokkal összhangban kell elvégezni.

16. Hibaelhárítás

A kezelési utasításoktól való bármilyen eltérés rosszabb festési eredményhez vagy egyáltalán nem festéshez vezethet. További információkért kérjük, olvassa el a www.zytovision.com honlapot.

Gyenge jelek vagy egyáltalán nincs jel

Lehetséges ok	Javasolt teendő
Nem megfelelően végzett proteolitikus előkezelés	Optimalizálja a pepszin inkubációs idejét, szükség esetén növelje vagy csökkentse azt.
Szonda párolgás	A hibridizáló használata esetén a nedves csíkok/vízzel töltött tartályok használata kötelező. Hibridizáló kemence használata esetén a párákamra használata kötelező. Ezenkívül a fedőlemezt teljesen le kell zárni, pl. Fixogummal, hogy megakadályozzuk a minta kiszáradását a hibridizáció során.

A kromogén szubsztrát nem megfelelő előkészítése	Egy csepp DAB A oldat helyett használjunk 30 µl-t.
Túl hosszú az ellenfestési idő	Kerülje a sötét ellenfestést, mert az elfedheti a pozitív festési jeleket.
Az ellenfesték kékítése nem megfelelően történik	A kékítéshez hideg folyó csapvizet használjon; ne használjon meleg vagy forró vizet vagy kékítő reagenseket.

Túl erős jelek

Lehetséges ok	Javasolt teendő
Túl hosszú ideig végzett proteolitikus előkezelés	Optimalizálja a pepszin inkubációs idejét, szükség esetén növelje vagy csökkentse azt.
A szubsztrát reakció túl intenzív	Rövidítse le a szubsztrát inkubációs idejét; ne melegítse a szubsztrátoldatot 25 °C fölé; csak szobahőmérsékleten inkubálja.

A jelek elhalványulnak vagy összeolvadnak

Lehetséges ok	Javasolt teendő
Nem megfelelő szerelési megoldást használtak	Kizárólag a készlethez mellékelt rögzítő oldatot vagy minden szennyeződéstől mentes xilén alapú rögzítő oldatot használjon; ne használjon fedőszalagot.

Egyenetlen vagy egyes részekben csak nagyon enyhe foltosodás

Lehetséges ok	Javasolt teendő
Nem teljes viaszmentesítés	Használjon friss oldatokat; ellenőrizze a viaszmentesítési időtartamát.
Túl kicsi a reagens térfogata	Győződjön meg arról, hogy a reagens térfogata elég nagy ahhoz, hogy a szöveti területet fedjedje.

Ellentmondásos eredmények

Lehetséges ok	Javasolt teendő
Elégtelen szárítás a szonda felhelyezése előtt	Légszárítás meghosszabbítása
Túl sok víz/mosópuffer a szöveten a pepszin, az antitestek és/vagy a színezékszubsztrátumok felvitele előtt.	Győződjön meg arról, hogy a felesleges folyadékot a szövetszelvényről a tárgylemezről való leitatással vagy lerázással eltávolítja. A kis mennyiségű maradék víz/mosópuffer nem zavarja a vizsgálatot.
A szövetek rögzítési és beágyazási módszereinek változatai	A rögzítési és beágyazási módszerek optimalizálása
A szövetszelvény vastagságának változása	Optimalizálja a szekcionálást

Morfológia romlott

Lehetséges ok	Javasolt teendő
A sejt- vagy szövetmintát nem rögzítették megfelelően	A rögzítési idő és a fixálószer optimalizálása
Nem túl hosszú ideig végzett proteolitikus előkezelés	Csökkentse a pepszin inkubációs idejét

Kereszt hibridizációs jelek; zajos háttér

Lehetséges ok	Javasolt teendő
A szelvények a hibridizáció során vagy után bármikor kiszáradhattak.	Kerülje a szelvények kiszáradását; használjon páraakamrát; zárja le megfelelően a fedőlapot.
Meghosszabbított szubsztrát inkubációs idő	A szubsztrát inkubációs idejének lerövidítése
Nem teljes viaszmentesítés	Használjon friss oldatokat; ellenőrizze a viaszmentesítés időtartamát.
Túl erős proteolitikus előkezelés	A pepszin inkubációs idejének optimalizálása
A tárgylemezeket hibridizáció előtt szobahőmérsékletre kell hűteni.	A tárgylemezeket gyorsan helyezze át hibridizációs hőmérsékletre

Átfedő jelek

Lehetséges ok	Javasolt teendő
A szöveti metszetek nem megfelelő vastagsága	Készítsünk 3-5 µm-es mikrotomos metszeteket

A minta lebeg a tárgylemezről

Lehetséges ok	Javasolt teendő
Túl erős proteolitikus előkezelés	A pepszin inkubációs idő lerövidítése

17. Irodalom

- Isola J, Tanner M (2004) *Methods Mol Med* 97: 133-44.
- Speel EJ, et al. (1994) *J Histochem Cytochem* 42: 1299-307.
- Tsukamoto T, et al. (1991) *Int J Dev Biol* 35: 25-32.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, *Oxford University Press* (1992), ISBN 0 19 963327 4.

18. Felülvizsgálat

Felülvizsgálat	A változás leírása
1.2.1	11. Vizsgálati eljárás <i>A Wash Buffer PBS/Tween 2-8°C-on tárolva egy hétig stabil.</i>



www.zytovision.com

Kérjük, látogasson el www.zytovision.com weboldalra a legfrissebb használati utasításokért, valamint a különböző nyelvű használati utasításokért.

Szakembereink készséggel válaszolnak kérdéseikre.
Vegye fel velünk a kapcsolatot a help@zytovision.com címen.



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

Védjegy:

A ZytoVision® és a ZytoDot® a ZytoVision GmbH védjegyei.