



## ZytoDot CISH Implementation Kit

REF C-3018-100

100

Per l'uso nelle procedure di ibridazione *in situ*  
cromogenica (CISH)

4250380N397Z



Dispositivo medico – diagnostico in vitro  
in conformità al Regolamento IVDR (EU) 2017/746

### 1. Scopo previsto

Il ZytoDot CISH Implementation Kit deve essere utilizzato in combinazione con le sonde ZytoDot marcate con digossigenina su campioni fissati in formalina e inclusi in paraffina mediante ibridazione cromogenica *in situ* (CISH).

Il prodotto è destinato esclusivamente ad uso professionale. Tutti i test che utilizzano il prodotto devono essere eseguiti da personale qualificato in un laboratorio di anatomia patologica certificato e autorizzato, sotto la supervisione di un patologo/genetista umano.

### 2. Principio del metodo

La tecnica di ibridazione *in situ* cromogenica (CISH) consente la rivelazione e la visualizzazione di sequenze specifiche di acidi nucleici in preparazioni cellulari. I frammenti nucleotidici marcati con apteni, chiamati anche sonde CISH, e le loro sequenze target complementari nelle preparazioni vengono co-denaturati per consentire il successivo annealing durante l'ibridazione. Successivamente, frammenti di sonde aspecifici e non legati vengono rimossi mediante lavaggi stringenti. L'accoppiamento con la sonda marcata può essere visualizzato utilizzando anticorpi primari (non marcati) che sono rivelati mediante anticorpi secondari coniugati con enzimi polimerizzati. La reazione enzimatica con substrati cromogenici porta alla formazione di precipitati colorati. Dopo la controcolorazione dei nuclei con un colorante nucleare, i frammenti di sonda ibridata sono visibili al microscopio ottico.

### 3. Reagenti forniti

Il ZytoDot CISH Implementation Kit è disponibile in un unico formato ed è composto da:

Codice	Componenti	Importo	Contenitore
		40	
PT2	<u>Heat Pretreatment Solution EDTA</u>	500 ml	Flacone con tappo a vite (grande)
ES1	<u>Pepsin Solution</u>	4 ml	Flacone contagocce, tappo bianco
WB1	<u>Wash Buffer SSC</u>	560 ml	Flacone con tappo a vite (grande)
WB4	<u>PBS/Tween</u>	2x	Confezione in alluminio
BS1	<u>Blocking Solution</u>	4 ml	Flacone contagocce, tappo arancione
AB1	<u>Mouse Anti-Dig</u>	4 ml	Flacone contagocce, tappo rosa
AB2	<u>Anti-Mouse-HRP-Polymer</u>	4 ml	Flacone contagocce, tappo viola
SB1a	<u>DAB Solution A</u>	0,3 ml	Flacone contagocce, tappo verde
SB1b	<u>DAB Solution B</u>	10 ml	Flacone contagocce, tappo grigio
CS1	<u>Mayer's Hematoxylin Solution</u>	20 ml	Flacone con tappo a vite, nero
MT4	<u>Mounting Solution (alcoholic)</u>	4 ml	Bottiglia di vetro, marrone
	Istruzioni per l'uso	1	

**C-3018-40 (40 tests):** I componenti **ES1**, **BS1**, **AB1**, **AB2**, **SB1a-b**, **CS1** e **MT4** sono sufficienti per 40 reazioni. Il componente **PT2** è sufficiente per 7 vasi di colorazione da 70 ml ciascuno. Il componente **WB1** è sufficiente per 8 vasi di colorazione da 70 ml ciascuno. Il componente **WB4** è sufficiente per 28 vasi di colorazione da 70 ml ciascuno..

### 4. Materiali richiesti ma non forniti

- ZytoDot CISH Probe
- Campioni di controllo positivi e negativi
- Vetrini per microscopio, carichi positivamente
- Bagno ad acqua (80 °C, 98 °C)
- Ibridatore o piastra calda
- Ibridatore o camera di umidità nel forno di ibridazione
- Pipette regolabili (10 µl, 1000 µl)
- Macchiare vasi o vasche
- Timer
- Termometro calibrato
- Etanolo o alcool reagente
- Xilene
- Metanolo 100%
- Perossido d'idrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 30%
- Acqua deionizzata o distillata
- Vetrini (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Cemento di gomma, ad esempio, Fixogum Rubber Cement (n. di produzione E-4005-50/-125) o simile.
- Microscopio ottico adeguatamente mantenuto (400-630x)

### 5. Conservazione e stoccaggio

Conservare a 2-8°C in posizione verticale. Riportare alle condizioni di stoccaggio indicate subito dopo l'utilizzo. Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza indicata in etichetta. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicata in etichetta, se correttamente conservato.

## 6. Avvertenze e precauzioni

- Leggere le istruzioni prima dell'utilizzo.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza!
- Questo prodotto contiene sostanze (in bassa concentrazione e volume) che sono nocive per la salute e potenzialmente infette. Evitare qualsiasi contatto diretto con i reagenti. Prendere le adeguate misure di precauzione (utilizzare i guanti, gli occhiali di protezione e il camice da laboratorio)!
- Segnalare qualsiasi incidente grave relativo al prodotto al produttore e all'autorità competente in conformità alle normative locali.
- Se il reagente dovesse entrare in contatto con la pelle, risciacquare subito abbondantemente!
- La scheda di sicurezza è disponibile su richiesta per usi professionali.
- Non riutilizzare i reagenti.
- Evitare la cross-contaminazione dei campioni, in quanto questo potrebbe portare a risultati sbagliati.
- I campioni non devono essere lasciati asciugare durante le fasi di ibridazione e lavaggio.

### Frasi di pericolo e prudenza per BS1, AB1, AB2, PT2, e WB1:

Il componente pericoloso è una miscela di: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-metil-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1).



#### Attenzione

H317	Può provocare una reazione allergica cutanea.
P261	Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P272	Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
P302+P352	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua.
P333+P313	In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico.
P362+P364	Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

### Frasi di pericolo e prudenza per SB1a:

Il componente che determina il pericolo è la bifenil-3,3',4,4'-tetrailtetraammina; diamminobenzidina.



#### Danger

H350	Può provocare il cancro.
P201	Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P202	Non manipolare prima di avere letto e compreso tutte le avvertenze.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso/proteggere l'udito.
P308+P313	IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.
P405	Conservare sotto chiave.

### Frasi di pericolo e prudenza per SB1b:

Il componente pericoloso è una miscela di: 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-one [EC no. 247-500-7]; 2-metil-2H-isotiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1).



#### Pericolo

H317	Può provocare una reazione allergica cutanea.
H360D	Può nuocere al feto.
P201	Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso.
P261	Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
P302+P352	IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua.
P308+P313	IN CASO di esposizione o di possibile esposizione, consultare un medico.
P362+P364	Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

### Frasi di pericolo e prudenza per MT4:

Il componente che determina il pericolo è lo xilene.



#### Attenzione

H226	Liquido e vapori infiammabili.
H312+H332	Nocivo a contatto con la pelle o se inalato.
H315	Provoca irritazione cutanea.
H319	Provoca grave irritazione oculare.
H335	Può irritare le vie respiratorie.
H373	Può provocare danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.
P210	Tenere lontano da fonti di calore, superfici calde, scintille, fiamme libere o altre fonti di accensione. Non fumare.
P260	Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol.
P280	Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
P305+P351+P338	IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
P337+P313	Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico.
P403+P235	Conservare in luogo fresco e ben ventilato.
EUH208	Contiene metacrilato di metile; metil 2-metilprop-2-enoato; metil-metacrilato, n-butilmetacrilato. Può provocare una reazione allergica.

### Frasi di pericolo e prudenza per CS1 e WB4:

La miscela non è classificata come pericolosa ai sensi del regolamento (CE) n. 1272/2008.

### Etichettatura speciale di ES1:

EUH208	Contiene pepsina A. Può provocare una reazione allergica.
EUH210	Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta.

## 7. Limitazioni

- Per uso diagnostico *in vitro*.
- Solo per uso professionale.
- Solo per uso non-automatico.
- L'interpretazione clinica di qualsiasi colorazione positiva o meno deve essere condotta considerando il contesto della storia clinica, della morfologia, di altri criteri istopatologici e di altri test diagnostici. È responsabilità di un patologo/genetista umano qualificato avere familiarità con le sonde ISH, i reagenti, i pannelli diagnostici e i metodi utilizzati per la colorazione del preparato. La colorazione deve essere eseguita in un laboratorio certificato e autorizzato sotto la supervisione di un patologo/genetista umano che è responsabile della revisione dei vetrini colorati e della garanzia dell'adeguatezza dei controlli positivi e negativi.
- La colorazione, in particolar modo l'intensità del segnale e il rumore di fondo, dipende da come il campione è stato gestito e processato prima della colorazione stessa. Una fissazione impropria, il congelamento, lo scongelamento, il lavaggio, l'asciugatura, il riscaldamento, il sezionamento o la contaminazione con un altro campione o fluido può produrre artefatti o falsi risultati. Risultati incoerenti possono derivare da variazioni nei metodi di fissazione e inclusione.
- Le prestazioni sono state convalidate utilizzando le procedure descritte nelle istruzioni per l'uso della rispettiva sonda o del kit di implementazione ZytoVision. Le modifiche a queste procedure potrebbero alterare le prestazioni e devono essere convalidate dall'utente. Questo prodotto IVD è certificato come CE solo se utilizzato come descritto in queste istruzioni nell'ambito dell'uso previsto.

## 8. Sostanze interferenti

I seguenti fissativi sono incompatibili con ISH:

- Fissativo di Bouin
- Fissativo B5
- Fissativi acidi (es. acido picrico)
- Fissativo di Zenker
- Alcoli (se usati da soli)
- Cloruro mercurico
- Fissativo a base di formaldeide e zinco
- Il fissativo di Hollande
- Formalina non tamponata

## 9. Preparazione dei campioni

Raccomandazioni:

- Evitare la contaminazione incrociata dei campioni per evitare risultati errati.
- Fissazione in formalina tamponata neutra al 10% per 24 ore a temperatura ambiente (RT, 18°C-25°C).
- Dimensione del campione  $\leq 0,5 \text{ cm}^3$ .
- Utilizzare paraffina di qualità superiore.
- L'inclusione deve essere effettuata a temperature inferiori a 65°C.
- Preparare sezioni al microtomo da 3-5  $\mu\text{m}$ .
- Utilizzare vetrini da microscopio con carica positiva.
- Fissare le sezioni di tessuto per 2-16 ore a 50-60°C.

## 10. Trattamento preparatorio del prodotto

PBS/Tween (WB4) deve essere preparato secondo le istruzioni riportate al punto 11. "Procedura di lavoro". Tutti gli altri reagenti del kit sono pronti all'uso. Non è richiesta alcuna ricostituzione, miscelazione o diluizione.

## 11. Procedura di lavoro

### 11.1 Giorno 1

#### Fasi preparatorie

- (1) Preparare una serie di soluzioni di etanolo (70%, 90% e 100%): Diluire l'etanolo al 100% con acqua deionizzata o distillata. Queste soluzioni possono essere conservate in contenitori adeguati e possono essere riutilizzate.
- (2) Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2): Riscaldare a 98°C in un barattolo di colorazione coperto.

- (3) Preparazione di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3%: Diluire 1 parte di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% in 9 parti di metanolo al 100%.

- (4) ZytoDot CISH Probe: Portare a temperatura ambiente (RT) prima dell'uso.

#### Pretrattamento (decerazione/proteolisi)

- (1) Incubare i vetrini per 10 minuti a 70°C (ad esempio, su una piastra).
- (2) Incubare i vetrini per 2x 5 min in xilene.
- (3) Incubare i vetrini per 3x 3 min in etanolo al 100%.
- (4) Incubare i vetrini per 5 min in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 3%.
- (5) Lavare i vetrini 2x 1 min in acqua deionizzata o distillata a temperatura ambiente.
- (6) Incubare per 15 min in Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2) preriscaldata a 98°C.

*Utilizzare otto vetrini per ogni barattolo di colorazione (aggiungere vetrini finti se necessario).*

- (7) Trasferire immediatamente i vetrini in acqua deionizzata o distillata e lavare per 2x 2 min.

- (8) Applicare (a gocce) la Pepsin Solution (ES1) sul campione e incubare per 5-15 min a 37°C in una camera umida.

*ES1 può formare precipitati, che non influiscono sulla qualità.*

*Come regola generale, si consiglia di accertare il tempo ottimale per la proteolisi nei test preliminari.*

- (9) Immergere i vetrini in acqua deionizzata o distillata a temperatura ambiente.

- (10) Disidratazione in: 70%, 90% e 100% etanolo, ciascuno per 1 min.

- (11) Asciugare all'aria le sezioni.

*Nota: assicurarsi che le sezioni siano completamente asciutte prima dell'applicazione della sonda.*

#### Denaturazione e ibridazione

- (1) Pipettare 10  $\mu\text{l}$  di ZytoDot CISH Probe su ciascun campione pretrattato.

- (2) Coprire i campioni con un vetrino coprioggetto di 22 mm x 22 mm (per evitare la formazione di bolle) e sigillare il vetrino.

*Per la sigillatura si consiglia di utilizzare del cemento per gomma (ad es. Fixogum).*

- (3) Posizionare i vetrini su una piastra calda o su un ibridatore e denaturare i campioni per 5 min a 94-95°C.

- (4) Trasferire i vetrini in una camera di umidità e ibridare per una notte a 37°C (ad esempio, in un forno di ibridazione).

*È essenziale che i campioni non si seccino durante la fase di ibridazione.*

### 11.2 Giorno 2

#### Fasi preparatorie

- (1) Wash Buffer SSC (WB1): Per il lavaggio di rigore, riscaldare a 80°C in un barattolo di colorazione coperto. **WB1** può formare precipitati a 2-8°C, che non influiscono sulla qualità e si dissolvono quando vengono riscaldati.

- (2) Preparazione di Wash Buffer PBS/Tween: Aggiungere 1 compressa di PBS/Tween (**WB4**) a 1000 ml di acqua deionizzata o distillata e sciogliere.

*Il Wash Buffer PBS/Tween è stabile per una settimana se conservato a 2-8°C.*

- (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): Portare a temperatura ambiente prima dell'uso.

#### Post-ibridazione e rilevamento

- (1) Rimuovere con cautela il cemento o la colla di gomma.

- (2) Rimuovere il coprioggetto immergendolo in Wash Buffer SSC (WB1) a temperatura ambiente per 5 min.

*WB1 può essere riutilizzato una volta. Conservare a 2-8°C per un massimo di una settimana.*

- (3) Lavare i vetrini per 5 min in Wash Buffer SSC (WB1) a 80°C.

*Utilizzare otto vetrini per ogni barattolo di colorazione (aggiungere vetrini finti se necessario).*

- (4) Lavare i vetrini 2x 1 min in acqua deionizzata o distillata a temperatura ambiente.

- (5) Immergere i vetrini in Wash Buffer PBS/Tween.

- (6) Applicare Blocking Solution (BS1) (1-2 gocce per vetrino) sui vetrini e incubare per 10 minuti a temperatura ambiente.

- (7) Togliere la Blocking Solution (BS1), **ma non risciacquare!**

- (8) Applicare Mouse-Anti-DIG (AB1) (1-2 gocce per vetrino) sui vetrini e incubare per 30 min a RT.

- (9) Lavare i vetrini 3x 1 min in PBS/Tween.
- (10) Applicare Anti-Mouse-HRP-Polymer (AB2) (1-2 gocce per vetrino) sui vetrini e incubare per 30 min a RT.
- (11) Lavare i vetrini 3x 1 min in PBS/Tween.
- (12) Preparare la soluzione DAB (soluzione di lavoro): riempire 1 ml di DAB Solution B (SB1b) in un bicchiere graduato e aggiungere una goccia (30 µl) di DAB Solution A (SB1a). Mescolare bene.
- (13) Applicare DAB Solution (1-2 gocce per vetrino) sui vetrini e incubare per 30 min a temperatura ambiente.
- (14) Trasferire i vetrini in un barattolo di colorazione e lavare per 2 minuti con acqua corrente fredda.
- (15) Controcolorare i campioni per 5-10 secondi con la Mayer's Hematoxylin Solution (CS1).
- (16) Trasferire i vetrini in un barattolo di colorazione e lavare per 2 minuti con acqua corrente fredda.
- (17) Disidratazione in: 70%, 90% e 100% di etanolo, ciascuno per 1 minuto.
- (18) Incubare i vetrini per 2 volte 2 minuti in xilene (utilizzare xilene molto puro).
- (19) Per evitare la formazione di bolle, coprire i campioni con un coprioggetto (22 mm x 22 mm; 24 mm x 32 mm) utilizzando la Mounting Solution (alcoholic) (MT4). Lasciare 20-30 min per immobilizzare il coprioggetto.

*L'uso di un puntale tagliato per aumentare le dimensioni dell'apertura può facilitare il processo di pipettaggio.*

- (20) Valutare i campioni colorati utilizzando la microscopia ottica.

## 12. Interpretazione dei risultati

Utilizzando il ZytoDot CISH Implementation Kit, i segnali di ibridazione dei polinucleotidi marcati con digossigenina appaiono come punti distinti di colore da marrone a marrone scuro. Nelle interfasi o metafasi di cellule normali o senza aberrazioni dei cromosomi esaminati, appariranno due segnali per ogni bersaglio, ad eccezione delle sonde che hanno come bersaglio i cromosomi X o Y, che daranno luogo a due, nessuno o un solo segnale a seconda del genere e della sonda utilizzata. Nelle cellule con aberrazioni cromosomiche, nelle interfasi o nelle metafasi può essere visibile un diverso pattern di segnali. Per maggiori dettagli sull'interpretazione dei risultati, consultare le istruzioni per l'uso della rispettiva sonda ZytoDot CISH.

## 13. Procedure di Controllo qualità raccomandate

Fare riferimento alle istruzioni per l'uso della rispettiva sonda ZytoVision.

## 14. Caratteristiche di performance

Fare riferimento alle istruzioni per l'uso della rispettiva sonda ZytoVision.

## 15. Smaltimento

Lo smaltimento dei reagenti deve avvenire in accordo alle regolamentazioni locali.

## 16. Risoluzione dei problemi

Qualsiasi modifica dalle istruzioni operative può comportare risultati di colorazione inferiori o a nessuna colorazione. Fare riferimento a [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com) per altre informazioni.

### Segnali deboli o mancanti

Possibile causa	Azione
Trattamento proteolitico non condotto in modo adeguato	Ottimizzare il tempo di incubazione in pepsina, aumentandolo o diminuendolo, se necessario
Evaporazione della sonda	Se si utilizza l'ibridatore, è obbligatorio l'utilizzo di strisce umide o di tuniche preriempite d'acqua. Se si utilizza una stufa d'ibridazione, usare una camera umida. Inoltre il coprioggetto deve essere completamente sigillato, per esempio con Fixogum, per prevenire che il campione si asciughi durante l'ibridazione

Insufficiente preparazione del substrato cromogenico	Invece di utilizzare una goccia di DAB Solution A, utilizzare 30 µl
Il tempo di controcolorazione è troppo lungo	Evitare una controcolorazione scura perché potrebbe oscurare segnali positivi della colorazione
Il lavaggio della controcolorazione non avviene correttamente	Utilizzare acqua di fonte fredda per lavare: non utilizzare acqua tiepida o calda o reagenti di lavaggio.

### Segnali troppo forti

Possibile causa	Azione
Trattamento proteolitico non condotto in modo adeguato	Ottimizzare il tempo di incubazione in pepsina, aumentandolo o diminuendolo, se necessario
La reazione del substrato è troppo intensa	Ridurre il tempo di incubazione del substrato; non scaldare la soluzione del substrato oltre i 25 °C; incubare solo a temperatura ambiente

### Segnali sbiaditi o fusi

Possibile causa	Azione
È stato utilizzato un mezzo di montaggio non idoneo	Utilizzare solo mezzi di montaggio forniti con il kit o mezzi di montaggio a base di xilene privi di impurezze. Non utilizzare il nastro coprioggetto.

### Colorazione debole non uniforme o solo in alcune porzioni

Possibile causa	Azione
Sparaffinatura incompleta	Utilizzare soluzioni fresche; controllare la durata della sparaffinatura
Il volume del reagente è troppo piccolo	Assicurarsi che il volume del reagente sia sufficiente a ricoprire l'area del tessuto

### Risultati inconsistenti

Possibile causa	Azione
Asciugatura insufficiente prima dell'applicazione della sonda	Aumentare i tempi di asciugatura
Troppa acqua / tampone di lavaggio sul tessuto prima dell'applicazione della pepsina, degli anticorpi o dei substrati	Assicurarsi che l'eccesso di liquido sia rimosso dalla sezione di tessuto tamponando o sgocciolando il vetrino. Piccoli quantitativi di acqua residua o di tampone di lavaggio non interferiscono con il test
Variazioni nella fissazione del tessuto o nel metodo di inclusione	Ottimizzare i metodi di fissazione e inclusione
Variazione dello spessore delle sezioni tissutali	Ottimizzare il taglio

### Morfologia degradata

Possibile causa	Azione
Il campione cellulare o tissutale non è stato fissato correttamente	Ottimizzare il tempo di fissazione e il fissativo
Pretrattamento proteolitico non condotto per un tempo adeguato	Diminuire il tempo di incubazione in pepsina

**Segnali di cross ibridazione; rumori di fondo**

Possibile causa	Azione
Sezioni asciutte durante o post ibridazione	Evitare che le sezioni si asciughino; utilizzare una camera umida e sigillare adeguatamente i vetrini
Tempo di incubazione del substrato prolungato	Diminuire il tempo di incubazione del substrato
Sparaffinatura incomplete	Utilizzare soluzioni fresche; controllare la durata della sparaffinatura
Pretrattamento proteolitico troppo forte	Ottimizzare il tempo di incubazione in pepsina
Vetrini raffreddati a temperature ambiente prima dell'ibridazione	Trasferire rapidamente i vetrini alla temperatura di ibridazione

**Nuclei sovrapposti**

Possibile causa	Azione
Inadeguato spessore della sezione di tessuto	Preparare sezioni al microto dello spessore di 3-5 $\mu\text{m}$

**Campione galleggiante sul vetrino**

Possibile causa	Azione
Pretrattamento proteolitico troppo forte	Ridurre il tempo di incubazione in pepsina

**17. Letteratura**

- 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. Revisione**

[www.Zytovision.com](http://www.Zytovision.com)

Fare riferimento al sito [www.Zytovision.com](http://www.Zytovision.com) per le istruzioni d'uso più recenti e per le istruzioni d'uso nelle diverse lingue.

Revisione	Descrizione della modifica
1.2.1	11. Procedura di lavoro <i>Il Wash Buffer PBS/Tween è stabile per una settimana se conservato a 2-8°C.</i>

I nostri esperti sono disponibili per rispondere alle vostre domande. Contattare per cortesia [helptech@Zytovision.com](mailto:helptech@Zytovision.com)



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

**Marchi registrati:**

ZytoVision® e ZytoDot® sono marchi registrati da ZytoVision GmbH.