



ZytoLight

SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit

REF

Z-2020-5

Σ 5

REF

Z-2020-20

Σ 20

Kvalitatīvai amplifikāciju noteikšanai, kas saistītas ar cilvēka ERBB2 gēnu un hromosomas 17 alfa satelītiem, izmantojot fluorescences in situ hibridizāciju (FISH)

4250380N447S



In vitro diagnostikas medicīnas ierīce  
saskaņā ar IVDR (ES) 2017/746

1. Paredzētais mērķis

ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit ir paredzēta cilvēka ERBB2 gēna amplifikāciju kvalitatīvai noteikšanai, kā arī hromosomas 17 alfa satelītu noteikšanai formalinā fiksētos, parafinā iestrādātos paraugos, piemēram, krūts vēža un kuņģa/ kuņģa-zarnu trakta savienojuma vēža paraugos, izmantojot fluorescences in situ hibridizāciju (FISH).

Produkts ir paredzēts tikai profesionālai lietošanai. Visi testi, kuros izmanto šo produktu, jāveic sertificētā, licencētā anatomiskās patoloģijas laboratorijā, patologa/cilvēka ģenētiķa uzraudzībā, ko veic kvalificēts personāls.

uņģa-zarnu trakta savienojuma vēža diferenciāldiagnozei, un, pamatojoties tikai uz testa rezultātu, nevajadzētu uzsākt terapeitiskus pasākumus.

2. Testa princips

Fluorescences in situ hibridizācijas (FISH) metode ļauj noteikt un vizualizēt specifiskas nukleīnskābju sekvences šūnu preparātos. Fluorescējoši marķēti DNS fragmenti, tā sauktās FISH zondes, un to komplementārās mērķa DNS virknes preparātos tiek kopendaturētas un pēc tam hibridizācijas laikā tiek atdalītas. Pēc tam nespecifiskos un nesaistītos zondes fragmentus noņem ar stingrām mazgāšanas darbībām. Pēc DNS pretkrāsošanas ar DAPI hibridizētos zondes fragmentus vizualizē, izmantojot fluorescences mikroskopu, kas aprīkots ar izstarošanas un emisijas filtriem, kuri ir specifiski fluorohromiem, ar kuriem ir tieši marķēti FISH zondes fragmenti.

3. Sniegtie reaģenti

ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe Kit ir pieejams divos izmēros un sastāv no:

Kods	Sastāvdaļa	Daudzums		Konteiners
		5	20	
PT1	Heat Pretreatment Solution Citric	150 ml	500 ml	Pudele ar skrūvējamu vāciņu (liela)
ES1	Pepsin Solution	1 ml	4 ml	Pudele ar pilienu, balts vāciņš
WB1	Wash Buffer SSC	210 ml	560 ml	Pudele ar skrūvējamu vāciņu (liela)
PL8	ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe	0.05 ml	0.2 ml	Reakcijas trauks, sarkanais vāks
WB2	25x Wash Buffer A	50 ml	2x50 ml	Pudele ar skrūvējamu vāciņu (vidēja izmēra)
MT7	DAPI/DuraTect-Solution	0.2 ml	0.8 ml	Reakcijas trauks, zils vāks
	Lietošanas instrukcija	1	1	

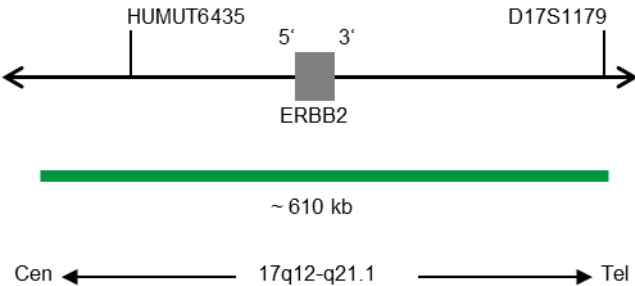
**Z-2020-5 (5 testi):** Komponenti **ES1** un **MT7** ir pietiekami 5 reakcijām. Komponenti **WB2** ir pietiekams 5x 3 krāsošanas burciņam pa 70 ml katrā. Komponenta **PT1** pietiek 2 krāsošanas burciņam pa 70 ml katrā. **WB1** komponents ir pietiekams 3 krāsošanas burciņam pa 70 ml katrā.

**Z-2020-20 (20 testi):** Komponenti **ES1** un **MT7** ir pietiekami 20 reakcijām. Komponenta **WB2** pietiek 11x 3 krāsošanas burciņam pa 70 ml katrā. Komponenta **PT1** pietiek 7 krāsošanas burciņam pa 70 ml katrā. **WB1** komponents ir pietiekams 8 krāsošanas burciņam pa 70 ml katrā.

ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (**PL8**) sastāv no:

- ZyGreen (uzbudinājums 503 nm/emisija 528 nm) marķēti polinukleotīdi (~10,0 ng/μl), kas ir vērsti uz sekvenēm, kas atrodas 17q12-q21.1\* (chr17:37,572,531-38,181,308), kurā atrodas ERBB2 gēna reģions (skatīt 1. attēlu).
- ZyOrange (uzbudinājums 547 nm/emisija 572 nm) marķēti polinukleotīdi (~1,5 ng/μl), kas ir vērsti uz sekvenēm, kuras kartētas 17p11.1-q11.1, kas raksturīgas 17. hromosomas alfa satelīta centromeriskajam reģionam D17Z1Hibridizācijas buferis uz formamīda bāzes.
- Hibridizācijas buferis uz formamīda bāzes

\*askaņā ar Cilvēka genoma asambleju GRCh37/hg1



1. attēls: SPEC ERBB2 Zondes karte (bez mēroga)

4. Nepieciešamie, bet nepiegādātie materiāli

- Pozitīvās un negatīvās kontroles paraugi
- Mikroskopa priekšmetstikliņi, pozitīvi lādēti
- Ūdens vanna (37 °C, 98 °C)
- Hibridizers vai karstā plate
- Hibridizators vai mitruma kamera hibridizācijas krāsnī
- Regulējamas pipetes (10 μl, 25 μl)
- Burku vai vannu krāsošana
- Taimeris
- Kalibrēts termometrs
- Etanols vai reaģentu spirts
- Ksilols



- Dejonizēts vai destilēts ūdens
- Pārklājumi (22 mm x 22 mm, 24 mm x 60 mm)
- Gumijas cements, piemēram, Fixogum Rubber Cement (Produkta Nr. E-4005-50/-125) vai līdzīgs.
- Atbilstoši uzturēts fluorescences mikroskops (400-1000x).
- Fluorescences mikroskopijai apstiprināta iegremdēšanas eļļa
- Piemēroti filtru komplekti

5. Uzglabāšana un pārvietošana

Uzglabāt 2-8 °C temperatūrā vertikālā stāvoklī, pasargātā no gaismas. Lietojiet pasargātu no gaismas. Uzreiz pēc lietošanas atgriezt glabāšanas apstākļos. Nelietot reaģentus pēc derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz etiķetes. Produkts ir stabils līdz marķējumā norādītajam derīguma termiņam, ja ar to rīkojas atbilstoši.

6. Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

- Pirms lietošanas izlasiet lietošanas instrukciju!
- Neizmantojiet reaģentus pēc derīguma termiņa beigām!
- Šis produkts satur veselībai kaitīgas un potenciāli infekciozas vielas (nelielā koncentrācijā un daudzumā). Izvairieties no tiešas saskares ar reaģentiem. Veikt atbilstošus aizsardzības pasākumus (lietot vienreizlietojamus cimdus, aizsargbrilles un laboratorijas apģērbu)!
- Par jebkuru nopietnu negadījumu, kas noticis saistībā ar izstrādājumu, ziņojiet ražotājam un kompetentajai iestādei saskaņā ar vietējiem noteikumiem!
- Ja reaģenti nonāk saskarē ar ādu, nekavējoties noskalojiet ādu ar lielu daudzumu ūdens!
- Profesionālam lietotājam pēc pieprasījuma ir pieejama materiālu drošības datu lapa.
- Neizmantojiet reaģentus atkārtoti, ja vien atkārtota izmantošana nav skaidri atļauta!
- Izvairieties no paraugu savstarpējas piesārņošanas, jo tas var izraisīt kļūdainus rezultātus.
- **PL8 un MT7** ilgāku laiku nedrīkst pakļaut gaismas, īpaši spēcīgas gaismas iedarbībai, t. i., visi pasākumi, ja iespējams, jāveic tumsā un/vai izmantojot gaismas necaurlaidīgus traukus.

Bīstamības un piesardzības brīdinājumi PL8:

Bīstamību noteicošais komponents ir formamīds.



Bīstamība

H351	Aizdomas par vēža izraisīšanu.
H360FD	Var kaitēt auglībai. Var kaitēt nedzimušajam bērnam.
H373	Ilgstoša vai atkārtota iedarbība var izraisīt orgānu bojājumus.
P201	Pirms lietošanas saņemiet īpašus norādījumus.
P202	Nestrādājiet ar to, kamēr nav izlasīti un izprasti visi drošības pasākumi.
P260	Neelpot putekļus/dūmus/gāzi/smideni/tvaikus/smideni.
P280	Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/acu/ sejas aizsardzību.
P308+P313	Ja ir apdraudēta vai ir bažas: Saņemiet medicīnisku konsultāciju/pievērsiet uzmanību.

Īpašs ES1 marķējums:

EUH208	Satur pepsin A. Var izraisīt alerģisku reakciju.
EUH210	Drošības datu lapa ir pieejama pēc pieprasījuma.

Bīstamības un piesardzības brīdinājumi PT1, WB1 un WB2:

Bīstamību noteicošais komponents ir maisījums no: 5-hlor-2-metil-4-izotiazolīn-3-ons [EK Nr. 247-500-7] un 2-metil-2H-izotiazol-3-ons [EK Nr. 220-239-6] (3:1).



Uzmanību

H317	Var izraisīt alerģisku ādas reakciju.
P261	Izvairīties ieelpot putekļus/tvaikus/gāzi/dūmus/izgarojumus/smideni.
P272	Piesārņoto darba apģērbu neiznest ārpus darba telpām.
P280	Izmantot aizsargcimdus/aizsargapģērbu un acu aizsargus/sejas aizsargus.
P302+P352	SASKARĒ AR ĀDU: Nomazgāt ar lielu ūdens daudzumu.
P333+P313	Ja rodas ādas iekaisums vai izsitumi: lūdziet medicīniskā palīdzību.
P362+P364	Novilkt piesārņoto apģērbu un pirms atkārtotas lietošanas izmazgāt.

MT7 bīstamības un piesardzības norādījumi:

Šis maisījums nav klasificēts kā bīstams saskaņā ar Regulu (EK) Nr. 1272/2008

7. Ierobežojumi

- Lietošanai *in vitro* diagnostikā.
- Tikai profesionālai lietošanai.
- Tikai neautomatizētai lietošanai.
- Pozitīva krāsojuma vai tā neesamības klīniskā interpretācija jāveic, ņemot vērā klīnisko anamnēzi, morfoloģiju, citus histopatoloģiskos kritērijus, kā arī citus diagnostiskos testus. Kvalificēta patologa/cilvēka ģenētika pienākums ir pārzināt FISH zondes, reaģentus, diagnostikas paneļus un metodes, ko izmanto, lai iegūtu krāsoto preparātu. Krāsošana jāveic sertificētā, licencētā laboratorijā patologa/cilvēka ģenētika uzraudzībā, kurš ir atbildīgs par iekrāsoto priekšmetstiklīņu pārskatīšanu un pozitīvās un negatīvās kontroles atbilstības nodrošināšanu.
- Parauga krāsošana, jo īpaši signāla intensitāte un fona krāsojums, ir atkarīga no parauga apstrādes un apstrādes pirms krāsošanas. Nepareiza fiksācija, sasaldēšana, atkausēšana, mazgāšana, žāvēšana, sildīšana, griezum veidošana vai piesārņojums ar citiem paraugiem vai šķidrumiem var radīt artefaktus vai kļūdainus rezultātus. Neatbilstīgu rezultātus var izraisīt fiksācijas un iestrādes metožu atšķirības, kā arī paraugam raksturīgi nelīdzenumi.
- Zondi drīkst izmantot tikai 3. nodaļā aprakstīto lokusu noteikšanai. "Pieģadātie reaģenti".
- Darbība tika validēta, izmantojot šajā lietošanas instrukcijā aprakstītās procedūras. Šo procedūru modifikācijas var mainīt veikspēju, un tās ir jāapstiprina lietotājam. Šis IVD ir sertificēts kā CE tikai tad, ja to lieto, kā aprakstīts šajā lietošanas instrukcijā, atbilstoši paredzētajam lietojumam.

8. Vielas, kas rada traucējumus

Paraugā esošajām sarkanajām asins šūnām var būt autofluorescence, kas kavē signāla atpazīšanu.

Ar FISH nav saderīgi šādi fiksatori:

- Buēna fiksatīvs
- B5 fiksators
- Skābie fiksatori (piemēram, pikronskābe).
- Zenkera fiksatīvs
- Alkoholi (ja tos lieto atsevišķi)
- Dzīvsudraba hlorīds
- Formaldehīda/cinka fiksators
- Olanda fiksatīvs līdzeklis
- Nebuferēts formalīns

9. Paraugu sagatavošana

Ieteikumi:

- Fiksēšana 10 % neitrāli buferētā formalinā 24 h istabas temperatūrā (18-25 °C).
- Parauga izmērs ≤ 0,5 cm<sup>3</sup>.
- Izmantot augstākās kvalitātes parafinu.
- Ievietošana jāveic temperatūrā, kas zemāka par 65 °C.
- Sagatavot 2-4 μm mikrotoma griezumus.
- Izmantojiet pozitīvi uzlādētus mikroskopa priekšmetstikļņus.
- Fiksējiet 2-16 h 50-60 °C temperatūrā.

10. Ierīces sagatavošanas apstrāde

25x Wash Buffer (WB2) ir iepriekš jāapstrādā saskaņā ar 11. punktā sniegtajiem norādījumiem. "Analīzes procedūra – 2.diena". Visi pārējie komplekta reaģenti ir gatavi lietošanai. Reaģenti nav jāatjauno, jāsaļauc vai jāatšķaida. Pirms lietošanas zondi jāuzsilda istabas temperatūrā (18-25 °C), jāaizsargā no gaismas. Pirms flakona atvēršanas samaisiet, virpuļojot un īsi pagriežot.

11. Analīzes procedūra

11.1 1. diena

Sagatavošanās pasākumi

- Sagatavojiet etanola sēriju (70 %, 90 % un 100 % etanola šķīdumi): Atšķaidīt 100% etanolu ar dejonizētu vai destilētu ūdeni. Šos šķīdumus var uzglabāt piemērotos traukos, un tos var izmantot atkārtoti.
- Heat Pretreatment Solution Citric (PT1): Uzkarsē līdz 98°C.
- Wash Buffer SSC (WB1): Uzkarsē līdz istabas temperatūrai (RT). WB1 var veidot nogulsnes 2-8 °C temperatūrā, kas neietekmē kvalitāti un karsējot izšķīst.
- ZytoLight FISH Probe: Pirms lietošanas nogataviniet līdz istabas temperatūra, pasargājiet no gaismas.

Pēc izvēles, ja tiek veikts pēcfiksācijas posms:

(Ieti ieteicams, ja audu fiksācija nav optimāla)  
Sagatavojiet 1% formaldehīda šķīdumu, izmantojot Formaldehyde Dilution Buffer Set (PT-0006-100)

Priekšapstrāde (vaskošana/proteolīze)

- Inkubējiet priekšmetstikļņus 10 minūtes 70 °C temperatūrā (piemēram, uz karstās plates).
- Inkubējiet priekšmetstikļņus 2x 10 minūtes ksilolā
- Inkubējiet 100%, 100%, 90% un 70% etanolā, katru 5 min.
- Mazgājiet 2x 2 min dejonizētā vai destilētā ūdenī.
- Inkubējiet 15 minūtes iepriekš uzsildītā Heat Pretreatment Solution Citric (PT1) 98°C temperatūrā.

Mēs iesakām vienā krāsošanas burcīnā neizmantot vairāk par astoņiem priekšmetstikļņiem.

- Tūlīt pārvietojiet priekšmetstikļņus dejonizētā vai destilētā ūdenī, mazgājiet 2x 2 minūtes un nosusiniet vai noslaukiet ūdenī.
- Uz paraugiem uzklāj (pilienvaidā) Pepsin Solution (ES1) un 15 minūtes inkubē 37 °C temperatūrā mitruma kamerā.

ES1 var veidot nogulsnes, kas neietekmē kvalitāti.

Atkānā no vairākiem faktoriem, piemēram, fiksācijas veida un ilguma, griezumu biezuma un audu/šūnu veida, var būt nepieciešams atšķirīgs inkubācijas laiks. Kā inkubācijas vadlīnijas mēs iesakām inkubācijas laiku 2-30 min audu paraugiem un 2-15 min šūnu paraugiem. Parasti mēs iesakām noskaidrot optimālo proteolīzes laiku iepriekšējos testos.

- Mazgājiet 5 minūtes mazgāšanas Wash Buffer SSC (WB1).

Pēc izvēles, ja tiek veikts pēcfiksācijas posms:

15 min inkubējiet priekšmetstikļņus 1 % formaldehīda šķīdumā un pēc tam 5 min mazgājiet mazgāšanas Wash Buffer SSC (WB1)

- Mazgāt 1 min dejonizētā vai destilētā ūdenī
- Dehidratācija: 70 %, 90 % un 100 % etanolā, katrs 1 min
- Izžāvējiet sadaļas ar gaisu.

Piezīme: Pirms zondes pielietošanas pārliecinieties, ka izcirtņi ir pilnīgi izžāvēti, jo mitruma atlikumi var samazināt signāla intensitāti un/vai ietekmēt audu morfoloģiju.

Denaturācija un hibridizācija

- Uz katra iepriekš apstrādātā parauga ar pipeti uzpildiet 10 μl ZytoLight SPEC ERBB2/CEN 17 Dual Color Probe (PL8).  
*Izvairieties no ilgstošas zondes pakļaušanas gaismas iedarbībai.*
- Pārklājiet paraugus ar 22 x 22 mm lielu pārklājplāksnīti (izvairieties no burbuļu veidošanās) un aiztaisiet pārklājplāksnīti.  
*Blīvēšanai ieteicams izmantot gumijas cementu (piemēram, Fixogum Rubber Cement).*
- Novietojiet priekšmetstikļņus uz karstās plates vai hibridizatora un denaturējiet paraugus 10 minūtes 75 °C temperatūrā.
- Pārvietojiet priekšmetstikļņus mitruma kamerā un hibridizējiet uz nakti 37 °C temperatūrā (piemēram, hibridizācijas krāsnī).

*Ir svarīgi, lai audu/šūnu paraugi hibridizācijas laikā neizžūtu.*

11.2 2. diena

Sagatavošanās posmi

- 1x Wash Buffer A sagatavošana: atšķaidiet 1 daļu 25x Wash Buffer A (WB2) ar 24 daļām dejonizēta vai destilēta ūdens. Piepildiet trīs krāsošanas burcīņas ar 1x Wash Buffer A un uzsildiet to līdz 37 °C.

Atšķaidīts 1x Wash Buffer A ir stabils vienu nedēļu, ja to uzglabā 2-8°C temperatūrā.

- DAPI/DuraTect-Solution (MT7): Pirms lietošanas nogatavināt istabas temperatūrā, pasargāt no gaismas.

Pēchibridizācija un noteikšana

- Uzmanīgi noņemiet gumijas cementu vai līmi.
- Noņemiet vāku, iegremdējot to 1x Wash Buffer A 37°C temperatūrā uz 1-3 min.
- Mazgājiet, izmantojot 1x Wash Buffer 2x 5 minūtes 37 °C temperatūrā.

1x Wash Buffer A jābūt iepriekš uzsildītam. Ja nepieciešams, pārbaudiet ar termometru.

- Inkubējiet priekšmetstikļņus 70 %, 90 % un 100 % etanolā, katru 1 min.
- Izžāvējiet paraugus gaisā, pasargājot no gaismas.
- Uz priekšmetstikļņiem ar pipeti uzpildiet 25 μl DAPI/DuraTect-Solution (MT7) Izvairieties no aizķertiem burbulīšiem, pārklājiet paraugus ar vāku (24 mm x 60 mm). Inkubēt tumsā 15 minūtes.

Izmantojot pipetes uzgalīti, kas ir nogriezts, lai palielinātu atveres izmēru, pipetēšanas procesu var atvieglot. Izvairieties no ilgstošas gaismas iedarbības.

- Uzglabājiet priekšmetstikļņu tumsā. Ilgākam glabāšanas laikam tas jāveic 2-8 °C temperatūrā.
- Parauga materiāla novērtēšanu veic, izmantojot fluorescences mikroskopiju. Nepieciešami filtru komplekti šādiem viļņu garuma diapazoniem:

Fluorescējošā krāsviela	Uzbudinājums	Emisijas
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

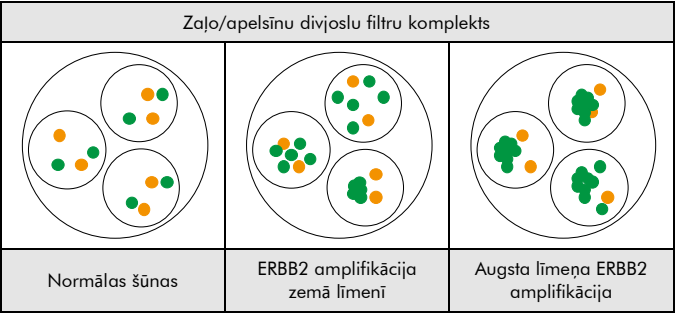
12. Rezultātu interpretācija

Izmantojot atbilstošus filtru komplektus, zondes hibridizācijas signāli ir zaļi (ERBB2 gēna reģions) un oranži (CEN 17).

**Normāla situācija:** Normālu šūnu vai šūnu, kurās nav amplifikācijas, kas skar ERBB2 gēna reģionu, starpfāzēs parādās divi zaļi un divi oranži signāli (skatīt 2. attēlu).

**Neparasta situācija:** Šūnās ar ERBB2 gēna reģiona amplifikāciju novērots palielināts oranžu signālu vai oranžu signālu kopu skaits (sk. 2. attēlu).

Pārklājošies signāli var parādīties kā dzeltenī signāli.



2. attēls: Paredzamie rezultāti normālos un aberantos kodolos

Dažos patoloģiskos paraugos var novērot citus signālu modeļus, kas nav iepriekš aprakstīti. Šie negaidītie signālu modeļi ir jāizpēta sīkāk.

Lūdzu, ņemiet vērā:

- Dekondensētā hromatīna dēļ atsevišķi FISH signāli var parādīties kā nelieli signālu klasteri. Tādējādi divi vai trīs vienāda lieluma signāli, kas ir atdalīti ar attālumu ≤ 1 signāla diametrs, jāuzskata par vienu signālu.
- Neizvērtējiet pārklājas kodolus.
- Neskaitiet pārtīrītus kodolus (ko atpazīst pēc tumšiem laukumiem kodola iekšpusē).
- Neskaitiet kodolus ar spēcīgu auto-fluorescenci, kas traucē atpazīt signālu.
- Negatīvu vai nespecifisku rezultātu var izraisīt vairāki faktori (skatīt 16. nodaļu "Problēmu novēršana").
- Lai pareizi interpretētu rezultātus, lietotājam šis produkts pirms lietošanas diagnostikas procedūrās ir jāapstiprina saskaņā ar valsts un/vai starptautiskajām vadlīnijām.

13. Ieteicamās kvalitātes kontroles procedūras

Lai uzraudzītu apstrādāto paraugu un testa reaģentu pareizu darbību, katrai analīzei ir jābūt pievienotai iekšējai un ārējai kontrolei. Ja iekšējās un/vai ārējās kontroles neuzrāda atbilstošu krāsojumu, rezultāti ar pacienta paraugiem jāuzskata par nederīgiem.

**Iekšējā kontrole:** Ne-neoplastiskas šūnas paraugā, kurām ir normāls signāla modelis, piemēram, fibroblasti.

**Ārējā vadība:** Apstiprināti pozitīvās un negatīvās kontroles paraugi.

14. Veiktspējas raksturlielumi

14.1 Analītiskā veiktspēja

Analītiskā jutība:	100% (95% CI 98.5 – 100.0)
Analītiskā specifika:	100% (95% CI 97.0 – 100.0)

14.2 Klīniskā veiktspēja

Diagnostikas jutīgums:	Krūts vēzis: 93% (95% CI 91.0 – 95.0) pamatojoties uz divdimensiju modeli Kuņģa vēzis un gastroezofageālā savienojuma vēzis: 88% (95% CI 74.0 – 95.0) pamatojoties uz divdimensiju modeli
Diagnostikas specifiskums:	Krūts vēzis: 98% (95% CI 97.0 – 99.0) pamatojoties uz divdimensiju modeli Kuņģa vēzis un gastroezofageālā savienojuma vēzis: 95% (95% CI 92.0 – 97.0) pamatojoties uz divdimensiju modeli

15. Izmešana

Reaģentu iznīcināšana jāveic saskaņā ar vietējiem noteikumiem.

16. Problēmu novēršana

Jebkura novirze no lietošanas instrukcijām var novest pie sliktākiem krāsošanas rezultātiem vai arī pie tā, ka krāsošana vispār nenotiek. Sīkāku informāciju skatiet [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com).

vāji signāli vai to nav vispār

Iespējamais iemesls	Rīcība
Šūnu vai audu paraugs nav pareizi fiksēts	Optimizējiet fiksācijas laiku un fiksatoru vai izmantojiet pēcfixācijas posmu, kā aprakstīt "Analīzes procedūra".
Nepareizi veikta proteolītiskā pirmapstrāde	Optimizēt pepsīna inkubācijas laiku, vajadzības gadījumā to palielināt vai samazināt.
Zondes iztvaikošana	Ja izmantojat hibrīdizeru, obligāti jāizmanto slapjās svītras/ ar ūdeni piepildītas tvertnes. Izmantojot hibrīdizācijas krāsni, obligāti jāizmanto mitruma kamera. Turklāt, lai novērstu parauga izžūšanu hibrīdizācijas laikā, pārklājlapas pilnībā jāaizlīmē, piemēram, ar fiksogumu.
Neatbilstoši izmantotie filtru komplekti	Izmantojiet zondes fluohromiem atbilstošus filtru komplektus. <i>Tīns joslu caurlaides filtru komplekti nodrošina mazāk gaismas saīdinājuma ar vienas vai divu joslu caurlaides filtru komplektiem. Līdz ar to, izmantojot šos trīsjoslu filtru komplektus, signāli var šķist vājāki.</i>

Krustveida hibrīdizācijas signāli; trokšņains fons

Iespējamais iemesls	Rīcība
Nepilnīga deparafinēšana	Izmantojiet svaigus šķīdumus; pārbaudiet deparafinēšanas ilgumu.
Pārāk spēcīga proteolītiskā pirmapstrāde	Pepsīna inkubācijas laika samazināšana
Slaidi pirms hibrīdizācijas atdzesēti līdz istabas temperatūrai	Ātri pārvietojiet priekšmetstiklīņus 37 °C temperatūrā

Morfoloģijas degradācija

Iespējamais iemesls	Rīcība
Šūnu vai audu paraugs nav pareizi fiksēts	Optimizējiet fiksācijas laiku un fiksatoru vai izmantojiet pēcfixācijas posmu, kā aprakstīt "Analīzes procedūra".
Nepareizi veikta proteolītiskā pirmapstrāde	Optimizēt pepsīna inkubācijas laiku, vajadzības gadījumā to samazināt.
Nepietiekama žāvēšana pirms zondes uzklāšanas	Pagarināt žāvēšanu gaisā

Pārklājošies kodoli

Iespējamais iemesls	Rīcība
Neatbilstošs audu griezumuma biezums	Sagatavojiet 2-4 μm mikrotoma griezumus

Paraugs peld no priekšmetstiklīņa

Iespējamais iemesls	Rīcība
Pārāk spēcīga proteolītiskā pirmapstrāde	Pepsīna inkubācijas laika samazināšana

**Vājš pretkrāsojums**

Iespējamais iemesls	Rīcība
Zema koncentrācijas DAPI šķīdums	Tā vietā izmantojiet <u>DAPI/DuraTect-Solution (ultra)</u> (Produkta Nr. MT-0008-0.8).
Pārāk īss DAPI inkubācijas laiks	Pielāgojiet DAPI inkubācijas laiku

**17. Literatūra**

- Brockhoff G, et al. (2016) *Histopathology* 69: 635-646.
- Gajaria PK, et al. (2020) *Indian J Pathol Microbiol* 63: 1
- Holten-Rossing H, et al. (2015) *Breast Cancer Res Treat* 152: 367-375.
- Hwang CC, et al. (2011) *Histopathology* 59: 984-992.
- Jensen SG, et al. (2020) *Apmis* 128: 573-582.
- Kievits T, et al. (1990) *Cytogenet Cell Genet* 53: 134-6.
- Köseoğlu RD, et al. (2019) *Eur J Breast Health* 15: 43.
- Nielsen SL, et al. (2017) *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 25: 320-328.
- Pfarr N, et al. (2017) *Genes Chromosomes Cancer* 56: 255-265.
- Schindlbeck C, et al. (2010) *J Cancer Res Clin Oncol* 136: 1029-1037.
- Staněk L, et al. (2014) *Mol Med Rep* 10: 2669-2674.
- Tabarestani S, et al. (2015) *Asian Pac J Cancer Prev* 16: 7997-8002.
- Wilkinson DG: In Situ Hybridization, A Practical Approach, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

**18. Pārskatīšana**
[www.zytovision.com](http://www.zytovision.com)

Jaunākās lietošanas instrukcijas, kā arī lietošanas instrukcijas dažādās valodās skatīt [vietnē www.zytovision.com](http://www.zytovision.com).

Mūsu eksperti ir gatavi atbildēt uz jūsu jautājumiem.

Lūdzu, sazinieties ar [help@zytovision.com](mailto:help@zytovision.com)

Drošības un veiktspējas kopsavilkumu skatiet šādā dokumentā [www.zytovision.com](http://www.zytovision.com).



ZytoVision GmbH

Fischkai 1

27572 Bremerhäfena/ Vācija

Tālrunis: +49 471 4832-300

Fakss: +49 471 4832-509

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

E-pasts: [info@zytovision.com](mailto:info@zytovision.com)

**Preču zīmes:**

ZytoVision® un ZytoLight® ir ZytoVision GmbH preču zīmes.