



ZytoFast PLUS
CISH Implementation Kit HRP-DAB

REF T-1063-40



Na použitie pri chromogénnej *in situ* hybridizácii (CISH)

4250380N567Z



Diagnostická zdravotnícka pomôcka in vitro
podľa IVDR (EÚ) 2017/746

1. Zamýšľané použitie

Súprava ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB Kit je určená na použitie v kombinácii so sondami ZytoFast označenými digoxigenínom na vzorkách fixovaných formalínom a zaliatých do parafínu pomocou chromogénnej *in situ* hybridizácie (CISH).

Výrobok je určený len na profesionálne použitie. Všetky testy s použitím výrobku by mal vykonávať kvalifikovaný personál v certifikovanom, licencovanom laboratóriu anatomickej patológie pod dohľadom patológa/humánneho genetika.

2. Princíp testu

Technika chromogénnej *in situ* hybridizácie (CISH) umožňuje detekciu a vizualizáciu špecifických sekvencií nukleových kyselín v bunkových preparátoch. Hapténom označené nukleotidové fragmenty, tzv. CISH sondy, a ich komplementárne cieľové sekvencie v preparátoch sú kodenaturované a následne sa nechajú hybridizovať (annealing). Potom sa nešpecifické a nenaviazané fragmenty sond odstránia premytím. Tvorbu *duplexu* značenej sondy možno vizualizovať pomocou primárnych (neoznačených) protilátok, ktoré sa detekujú pomocou sekundárnych polymerizovaných protilátok konjugovaných s enzýmom. Enzymatická reakcia s chromogénnymi substrátmi vedie k tvorbe farebných precipitátov. Po kontrastnom farbení jadra jadrovým farbivom sa hybridizované fragmenty sondy vizualizujú svetelnou mikroskopiou.

3. Poskytnuté činidlá

ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB je k dispozícii v jednej veľkosti a pozostáva z:

Kód	Komponent	Množstvo Σ 40	Kontajner
PT2	Heat Pretreatment Solution EDTA	500 ml	Fľaša so skrutkovacím uzáverom (veľká)
ES1	Pepsin Solution	4 ml	Fľaštička s kvapkadlom, biela čiapka
WB5	20x Wash Buffer TBS	4x 50 ml	Fľaša so skrutkovacím uzáverom
AB1	Mouse-Anti-Dig	4 ml	Fľaštička s kvapkadlom, ružová čiapka
AB2	Anti-Mouse-HRP-Polymer	4 ml	Fľaštička s kvapkadlom, fialová čiapka
SB1a	DAB Solution A	0.3 ml	Fľaštička s kvapkadlom, zelená čiapka (malé)
SB1b	DAB Solution B	10 ml	Fľaštička s kvapkadlom, šedá čiapka
CS2	Nuclear Blue Solution	20 ml	Fľaša so skrutkovacím uzáverom, čierna
MT4	Mounting Solution (alcoholic)	4 ml	Sklenená fľaša, hnedá
	Instructions for use	1	

T-1063-40 (40 testov): Komponenty **ES1**, **AB1**, **AB2**, **SB1a-b**, **CS2**, a **MT4** postačujú na 40 reakcií. Komponent **PT2** postačuje na 7 nádob na farbenie po 70 ml. Komponent **WB5** postačuje na 57 farbiacich nádobiek po 70 ml.

4. Požadované, ale neposkytované materiály

- Digoxigenínom značená ZytoFast CISH Probe
- Pozitívne a negatívne kontrolné vzorky
- Mikroskopické sklíčka, kladne nabité
- Vodný kúpeľ (55 °C, 98 °C)
- Hybridizér alebo horúca platňa
- Hybridizér alebo vlhká komora v hybridizačnej peci
- Nastaviteľné kalibrované pipety (10 µl, 100 µl, 1000 µl)
- Farbiace nádoby alebo kúpele
- Časovač
- Kalibrovaný teplomer
- Etanol alebo reagenčný alkohol
- Xylén
- Metanol 100%
- Peroxid vodíka (H₂O₂) 30%
- Deionizovaná alebo destilovaná voda
- Krycie sklíčka (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Gumové lepidlo, napr. Fixogum Rubber Cement (č E-4005-50/-125) alebo podobný
- Primerane udržiavaný svetelný mikroskop (100-200x)

5. Skladovanie a manipulácia

Uchovávať pri teplote 2-8 °C vo zvislej polohe. Okamžite po použití vráťte do skladovacích podmienok. Nepoužívajte činidlá po dátume expirácie uvedenom na etikete. Produkt je stabilný do dátumu expirácie uvedeného na etikete, ak sa s ním zaobchádza primeraným spôsobom.

6. Upozornenia a bezpečnostné opatrenia

- Pred použitím si prečítajte návod na použitie!
- Nepoužívajte činidlá po uplynutí dátumu expirácie!
- Tento výrobok obsahuje látky (v nízkych koncentráciách a objemoch), ktoré sú zdraviu škodlivé. Vyhnite sa akémukoľvek priamemu kontaktu s činidlami. Prijmite vhodné ochranné opatrenia (používajte jednorazové rukavice, ochranné okuliare a laboratórny odev)!
- Každý závažný incident, ku ktorému došlo v súvislosti s výrobkom, nahláste výrobcovi a príslušnému orgánu podľa miestnych predpisov!
- Ak sa činidlá dostanú do kontaktu s pokožkou, okamžite ju opláchnite veľkým množstvom vody!
- Pre profesionálnych používateľov je na požiadanie k dispozícii karta bezpečnostných údajov.

- Reagencie nepoužívajte opakovane, pokiaľ nie je opakované použitie výslovne povolené!
- Vyhnite sa krížovej kontaminácii vzoriek, pretože to môže viesť k chybným výsledkom.
- Počas hybridizácie a premývania sa vzorky nesmú nechať vyschnúť.

Výstražné a bezpečnostné upozornenia pre AB1, AB2, PT2, a WB5:

Zložka určujúca nebezpečenstvo je zmesou: 5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ón [ES č. 247-500-7] a 2-metyl-2H-izotiazol-3-ón [ES č. 220-239-6] (3:1).



Pozor

H317	Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.
P261	Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov.
P272	Je zakázané vyniesť kontaminovaný pracovný odev z pracoviska.
P280	Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.
P302+P352	PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: umyte veľkým množstvom vody.
P333+P313	Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.
P362+P364	Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte.

Výstražné a bezpečnostné upozornenia pre CS2:

Nebezpečné zložky sú etandiol a etylénglykol.



Pozor

H373	Pri dlhšej alebo opakovanej expozícii sa po prehltnutí môžu poškodiť obličky.
P260	Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly.
P314	Ak pociťujete zdravotné problémy, vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.

Výstražné a bezpečnostné upozornenia pre MT4:

Nebezpečnou zložkou je xylén.



Pozor

H226	Horľavá kvapalina a pary.
H312+H332	Zdraviu škodlivý pri styku s kožou alebo pri vdýchnutí.
H315	Dráždi kožu.
H319	Spôsobuje vážne podráždenie očí.
H335	Môže spôsobiť podráždenie dýchacích ciest.
H373	Môže spôsobiť poškodenie orgánov pri dlhšej alebo opakovanej expozícii.
P210	Uchovávať mimo dosahu tepla, horúcich povrchov, iskier, otvoreného ohňa a iných zdrojov zapálenia. Nefajčite.
P260	Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly.
P280	Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre.
P305+P351+P338	PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní.
P337+P313	Ak podráždenie očí pretrváva: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.
P403+P235	Uchovávať na dobre vetranom mieste. Uchovávať v chlade.
EUH208	Obsahuje methyl 2-methylprop-2-enoate; methyl 2-methylpropenoate; methyl methacrylate, n-butyl methacrylate. Môže vyvolať alergickú reakciu.

Výstražné a bezpečnostné upozornenia pre SB1a:

Zložkou určujúcou nebezpečnosť je bifenyľ 3,3',4,4'-tetrayltetraamín; diaminobenzidín.



Nebezpečenstvo

H350	Môže spôsobiť rakovinu.
P201	Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi.
P202	Nepoužívajte, kým si neprečítate a nepochopíte všetky bezpečnostné opatrenia.
P280	Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre/prostriedky na ochranu sluchu.
P308+P313	Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.
P405	Uchovávať uzamknuté.

Výstražné a bezpečnostné upozornenia pre SB1b:

Zložkou určujúcou nebezpečenstvo je imidazol;

reakčná hmotnosť: (3:1): 5-chlór-2-metyl-4-izotiazolín-3-ón [ES č. 247-500-7] a 2-metyl-2H-izotiazol-3-ón [ES č. 220-239-6].

**Nebezpečenstvo**

H317	Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.
H360D	Môže poškodiť nenarodené dieťa.
P201	Pred použitím sa oboznámte s osobitnými pokynmi.
P261	Zabráňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmly/pár/aerosólov.
P280	Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre/prostriedky na ochranu sluchu.
P302+P352	PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: umyte veľkým množstvom vody.
P308+P313	Po expozícii alebo podozrení z nej: Vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť.
P362+P364	Kontaminovaný odev vyzlečte a pred ďalším použitím vyperte.

Špeciálne označenie ES1:

EUH208	Obsahuje pepsin A. Môže vyvolať alergickú reakciu.
EUH210	Na požiadanie možno poskytnúť kartu bezpečnostných údajov.

7. Obmedzenia

- Na diagnostické použitie *in vitro*.
- Len na profesionálne použitie.
- Len na neautomatizované použitie.
- Klinická interpretácia akéhokoľvek pozitívneho farbenia alebo jeho neprítomnosti sa musí vykonať v kontexte klinickej anamnézy, morfológie, iných histopatologických kritérií, ako aj iných diagnostických testov. Je zodpovednosťou kvalifikovaného patológa/humánneho genetika, aby poznal ISH sondy, reagenty, diagnostické panely a metódy použité na výrobu farbeného preparátu. Farbenie sa musí vykonávať v certifikovanom, licencovanom laboratóriu pod dohľadom patológa/ humánneho genetika, ktorý je zodpovedný za preskúmanie farbených preparátov a zabezpečenie primeranosti pozitívnych a negatívnych kontrol.
- Zafarbenie vzorky, najmä intenzita signálu a zafarbenie pozadia, závisí od manipulácie so vzorkou a jej spracovania pred zafarbením. Nesprávna fixácia, zmrazenie, rozmrazenie, umývanie, sušenie, zahrievanie, rezanie alebo kontaminácia inými vzorkami alebo tekutinami môže spôsobiť artefakty alebo falošné výsledky. Nekonzistentné výsledky môžu byť dôsledkom rozdielov v metódach fixácie a vkladania, ako aj vnútorných nepravidielností vo vzorke.
- Výkon bol overený pomocou postupov opísaných v návode na použitie príslušnej sondy ZytoVision a implementačnej súpravy. Úpravy týchto postupov môžu zmeniť výkon a musí ich overiť používateľ. Tento IVD je certifikovaný ako CE len v prípade, že sa používa tak, ako je opísané v tomto návode na použitie v rozsahu určeného použitia.

8. Rušivé látky

Nasledujúce fixatíva sú nekompatibilné s ISH:

- Bouinovo fixačné činidlo
- Fixačné činidlo B5
- Kyslé fixačné prostriedky (napr. kyselina pikrová)
- Zenkerov fixatív
- Alkoholy (ak sa používajú samostatne)
- Chlorid ortuťnatý
- Formaldehydové/zinkové fixačné činidlo
- Hollandova fixácia
- Formalín bez pufru

9. Príprava vzoriek

Odporúčania:

- Vyhňte sa krížovej kontaminácii vzoriek v ktoromkoľvek kroku prípravy, pretože to môže viesť k chybným výsledkom.
- Fixácia v 10 % neutrálne pufovanom formalíne počas 24 hodín pri izbovej teplote (18 - 25 °C).
- Veľkosť vzorky ≤ 0.5 cm³.
- Používajte parafín prvotriednej kvality.
- Vkladanie by sa malo vykonávať pri teplotách nižších ako 65 °C.
- Prípravte rezy s veľkosťou 3 - 5 μm z mikrotomu.
- Použite pozitívne nabitie mikroskopické sklička.
- Fixujte tkanivové rezy 2 - 16 hodín pri 50-60°C.

10. Prípravné ošetrenie zariadenia

20x Wash Buffer TBS (WB5) sa pripraví podľa pokynov v časti 11. "Postup analýzy". Všetky ostatné činidlá súpravy sú pripravené na použitie. Nie je potrebná rekonštitúcia, miešanie ani riedenie.

11. Postup analýzy**Prípravné kroky**

- Prípravte sériu etanolu (70 %, 90 % a 100 % roztok etanolu):* Zriedte 100% etanol deionizovanou alebo destilovanou vodou. Tieto roztoky sa môžu uchovávať vo vhodných nádobách a môžu sa použiť opakovane.
- Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2):* Zahrejte na 98 °C v zakrytej nádobe na farbenie.
- Príprava 1x Wash Buffer TBS:* Zriedte 1 diel 20x Wash Buffer TBS (WB5) v 19 dieloch deionizovanej alebo destilovanej vody.

Príprava 1x Wash Buffer TBS je stabilný jeden týždeň pri skladovaní pri teplote 2-8 °C.

- 1x Wash Buffer TBS:* Na premytie sa zahreje na 55 °C v zakrytej nádobe na farbenie.
- ZytoFast CISH Probe:* Pred použitím uveďte na hybridizačnú teplotu a dôkladne premiešajte.
- Príprava 3% H₂O₂:* Zriedte 1 diel 30% H₂O₂ v 9 dieloch 100% metanolu.
- Mouse-Anti-DIG (AB1), Anti-Mouse-HRP-Polymer (AB2), DAB Solution A (SB1a), DAB Solution B (SB1b), Nuclear Blue Solution (CS2), Mounting Solution (alcoholic) (MT4):* Pred použitím uveďte do teploty RT (18 °C - 25 °C).

Predúprava (odvaskovanie/proteolýza)

- Sklička inkubujte 10 minút pri teplote 70 °C (napr. na horúcej platni).
- Inkubujte sklička 2x 5 minút v xyléne.
- Sklička inkubujte 3x 3 min v 100% etanole
- Sklička inkubujte 5 minút v 3% H₂O₂.
- Premyte sklička 2x 1 min v deionizovanej alebo destilovanej vode pri RT.
- Inkubujte 15 minút vo vopred zohriatom Heat Pretreatment Solution EDTA (PT2) pri 98 °C.

Na jednu nádobu na farbenie použite osem skličok (v prípade potreby pridajte fiktívne sklička).

- Sklička okamžite preneste do deionizovanej alebo destilovanej vody a premývajte 2x 2 min.
- Na vzorku naneste (po kvapkách) Pepsin Solution (ES1) a inkubujte 5-15 minút pri 37 °C vo vlhkej komore.

ES1 môže tvoriť zrazeniny, ktoré nemajú vplyv na kvalitu.

Vo všeobecnosti odporúčame zistiť optimálny čas pre proteolýzu v predbežných testoch.

- (9) Sklíčka ponorte do deionizovanej alebo destilovanej vody pri RT.
- (10) Dehydratácia v: Dehydratácia: 70%, 90% a 100% etanol, vždy po dobu 1 min.
- (11) Vzduchom vysušte časti.

Poznámka: Pred aplikáciou sondy sa uistite, že časti úplne vyschli.

Denaturácia a hybridizácia

- (1) Pipetujte 10 µl ZytoFast CISH Probe každú vopred upravenú vzorku.
- (2) Vzorky zakryte krycím sklíčkom s rozmermi 22 x 22 mm (zabráňte zachytávaniu bublín) a krycie sklíčko utesnite.

Na utesnenie odporúčame použiť gumový cement (napr. Fixogum).

- (3) Umiestnite sklíčka na horúcu platňu alebo hybridizátor a vzorky denaturujte 5 minút pri 75 °C.
- (4) Sklíčka preneste do komory s vlhkosťou a hybridizujte (napr. v hybridizačnej peci) 1 h pri 37 °C pre sondy zamerané na DNA* alebo pri 55 °C pre sondy* zamerané na RNA.

* Pozrite si návod na použitie priložený k sonde. Je dôležité, aby vzorky počas hybridizácie nevyschli.

Posthybridizácia a detekcia

- (1) Opatrne odstráňte gumový cement alebo lepidlo.
- (2) Odstráňte krycie sklíčka ponorením do 1x Wash Buffer TBS pri RT na 5 min.
- (3) Premývajte sklíčka 5 minút v 1x Wash Buffer TBS pri teplote 55 °C.

Na jednu nádobu na farbenie použite osem sklíčok (v prípade potreby pridajte fiktívne sklíčka).

- (4) Premývajte sklíčka 5 minút v 1x Wash Buffer TBS pri RT.
- (5) Na sklíčka naneste Mouse-Anti-DIG (AB1) (1-2 kvapky na sklíčko) a inkubujte 30 minút pri 37 °C vo vlhkej komore.
- (6) Premývajte sklíčka 3x 1 min. v 1x Wash Buffer TBS pri RT.
- (7) Na sklíčka naneste Anti-Mouse-HRP-Polymer (AB2) (1-2 kvapky na sklíčko) a inkubujte 30 minút pri 37 °C vo vlhkej komore.
- (8) Premývajte sklíčka 3x 1 min. v 1x Wash Buffer TBS pri RT.
- (9) Príprava DAB Solution (pracovný roztok): do odmerného pohára naplňte 1 ml DAB Solution B (SB1b) a pridajte jednu kvapku (30 µl DAB Solution A (SB1a)). Dobre premiešajte.
- (10) Na sklíčka naneste DAB Solution (1-2 kvapky na sklíčko) a inkubujte 20 minút pri 37 °C vo vlhkej komore.
- (11) Premyte sklíčka 3x 1 min v deionizovanej alebo destilovanej vode pri RT.
- (12) Vzorky -25 minút farbite Nuclear Blue Solution (CS2).
- (13) Sklíčka preneste do nádoby na farbenie a 2 minúty ich umývajte pod studenou tečúcou vodou z vodovodu.
- (14) Dehydratujte 3x 30 s v 100% etanole (použite veľmi čistý etanol).
- (15) Inkubujte sklíčka 2x 30 s v xyléne (použite veľmi čistý xylén).
- (16) Sušte na vzduchu približne 2 minúty.
- (17) Vyhnite sa zachyteným bublinkám, vzorky zakryte krycím sklíčkom (22 mm x 22 mm; 24 mm x 32 mm) pomocou Mounting Solution (alcoholic) (MT4). Nechajte 20 - 30 min, aby sa krycie sklíčko znehybnilo.

Použitie odrezanej špičky pipety na zväčšenie otvoru môže uľahčiť proces pipetovania.

- (18) Vyhodnoťte zafarbené vzorky pomocou svetelnej mikroskopie.

12. Interpretácia výsledkov

Pri použití súpravy ZytoFast PLUS CISH Implementation Kit HRP-DAB sa hybridizácia oligonukleotidov označených digoxigenínom prejavuje ako hneď sfarbené zrazeniny. Výsledkom protifarbenia vzoriek Nuclear Blue Solution (CS2) budú jadrá zafarbené do svetlej fialovomodrej farby.

V závislosti od použitej sondy ZytoFast sa pozitívna reaktivita v cieľových bunkách zisť v cytoplazme, alebo v jadre. Podrobnejší opis očakávaného vzoru signálu nájdete v návode na použitie priloženom k ZytoFast probe.

13. Odporúčané postupy kontroly kvality

Pozrite si návod na použitie príslušnej sondy ZytoVision.

14. Výkonnostné charakteristiky

Pozrite si návod na použitie príslušnej sondy ZytoVision.

15. Likvidácia

Likvidácia činidiel sa musí vykonávať v súlade s miestnymi predpismi.

16. Riešenie problémov

Akákoľvek odchýlka od návodu na obsluhu môže viesť k horším výsledkom farbenia alebo k tomu, že sa farbenie vôbec nevyskytne. Viac informácií nájdete na stránke www.zytovision.com.

Slabý signál alebo žiadny signál

Možná příčina	Akcia
Predbežná proteolytická úprava nebola vykonaná správne	Optimalizujte čas inkubácie pepsínu, v prípade potreby ho predĺžte alebo skráťte
Odparovanie sondy	Pri používaní hybridizéra je používanie vlhkých pásov/nádrží naplnených vodou povinné. Pri používaní hybridizačnej pece je potrebné používať vlhkú komoru. Okrem toho by malo byť krycie sklo úplne utesnené, napr. pomocou Fixogumu, aby sa zabránilo vysychaniu vzorky počas hybridizácie
Nedostatočná príprava chromogénneho substrátu	Namiesto prípravy farebných substrátov kvapkaním použite pipetu
Príliš dlhý čas kontrastného farbenia	Vyhnite sa tmavému kontrastnému farbeniu, pretože môže zakryť pozitívne signály farbenia
Nesprávne vykonané modrenie kontrastného farbiva	Na modrenie používajte studenú tečúcu vodu z vodovodu; nepoužívajte teplú alebo horúcu vodu ani modriace činidlá.

Signály zanikajú alebo sa spájajú

Možná příčina	Akcia
Bolo použité nevhodné montovacie médium	Používajte iba montážny roztok dodaný so súpravou alebo odporúčaný v návode na použitie. Používajte roztoky bez akýchkoľvek nečistôt; nepoužívajte kryciu pásku

Nerovnomerné alebo v niektorých častiach len veľmi ľahké zafarbenie

Možná příčina	Akcia
Neúplné odparafínovanie	Používajte čerstvé roztoky; skontrolujte dĺžku trvania odparafínovania
Príliš malý objem činidla	Uistite sa, že objem činidla je dostatočne veľký na pokrytie plochy tkaniva

Nekonzistentné výsledky

Možná příčina	Akcia
Nedostatočné vysušenie pred aplikáciou sondy	Predĺženie sušenia na vzduchu
Príliš veľa vody/preplachovacieho pufru na tkanive pred aplikáciou pepsínu, profilátok a/alebo farebných substrátov	Uistite sa, že prebytočná tekutina je z tkanivového rezu odstránená odsátím alebo striasaním zo sklíčka. Malé množstvá zvyškovej vody/preplachovacieho pufru neinterferujú s testom
Rozdiely v metódach fixácie a vkladania tkaniva	Optimalizácia metód fixácie a vkladania
Zmeny v hrúbke tkanivového rezu	Optimalizácia delenia na sekcie

Zhoršená morfológia

Možná příčina	Akcia
Vzorka buniek alebo tkaniva nebola správne fixovaná	Optimalizácia času fixácie a fixačného prostriedku
Predbežná proteolytická úprava nebola vykonaná správne	Optimalizujte čas inkubácie pepsínu

Silné pozadie

Možná příčina	Akcia
Sekcie vysušené kedykoľvek počas hybridizácie alebo po nej	Zabráňte vysušeniu rezov; použite vlhkú komoru; riadne utesnite krycie sklíčko
Predĺžený čas inkubácie substrátu	Skrátenie času inkubácie substrátu
Neúplné odparafinovanie	Používajte čerstvé roztoky; skontrolujte trvanie odparafinovania
Predbežná proteolytická úprava nebola vykonaná správne	Optimalizujte čas inkubácie pepsínu
Sklíčka pred hybridizáciou sú ochladené na izbovú teplotu	Rýchlo presuňte sklíčka na hybridizačnú teplotu

Prekrývajúce sa signály

Možná příčina	Akcia
Nevhodná hrúbka tkanivových rezov	Pripravte 3-5 µm rezy mikrotomom

Vzorka vypláva zo sklíčka

Možná příčina	Akcia
Príliš silná proteolytická predúprava	Skrátenie inkubačného času pepsínu

17. Literatúra

- 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. Revízia

Revízia	Opis zmeny
1.2.1	11. Postup analýzy Kroky predbežnej úpravy sa teraz vykonajú v obrátenom poradí: Odteraz sa inkubácia v <u>Heat Pretreatment Solution EDTA</u> musí vykonať pred aplikáciou <u>Pepsin Solution</u> . Okrem toho je teraz povinná dehydratácia sklíčok v etanole po predbežnej úprave, aby sa skrátil čas sušenia.


www.zytovision.com

Najnovší návod na použitie, ako aj návod na použitie v rôznych jazykoch nájdete na stránke www.zytovision.com.

Naši odborníci sú pripravení odpovedať na vaše otázky. Obráťte sa na help@zytovision.com



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Nemecko
Telefón: +49 471 4832-300
Fax: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
E-mail: info@zytovision.com

Ochranné známky:

ZytoVision® a ZytoFast® sú ochranné známky spoločnosti ZytoVision GmbH.