



ZytoDot 2C Glioma 1p/19q Probe Set

REF	C-3076-10	Σ	10
REF	C-3076-40	Σ	40

Kromojenik *in situ* hibridizasyon (CISH) ile 1p36.31 insan kromozom bölgesini içeren delesyonların ve 19q13.32-q13.33 insan kromozom bölgesini içeren delesyonların kalitatif tespiti için



Vücut dışında kullanılan (*in vitro*) tıbbi tanı cihazı
98/79/EC AB Yönetmeliğine göre

1. Kullanım amacı

ZytoDot 2C Glioma 1p/19q Probe Set formalin-fikse, parafine gömülü örneklerde 1p36.31 insan kromozom bölgesini içeren delesyonların ve de 19q13.32-q13.33 insan kromozom bölgesini içeren delesyonların kromojenik *in situ* hibridizasyon (CISH) ile kalitatif tespitinde kullanılmak içindir. Bu prob ZytoDot 2C CISH Implementation Kit (Ürün No. C-3044-10/-40) ile birlikte kullanılmak içindir.

Sonuçların yorumlanması hastanın diğer klinik ve patolojik verileri dikkate alınarak hastanın klinik geçmişi kapsamında yetkin bir patolojist tarafından yapılmalıdır.

2. Klinik bağlantısı

1. kromozomun kısa koluna (1p) ve 19. kromozomun uzun koluna (19q) etki eden delesyonlar insan gliomalarında sıklıkla bulunur. Merkezi sinir sistemi tümörlerinin 2016 WHO sınıflandırma kriterlerine göre WHO derece II veya III "oligodendroglioma, IDH-mutant ve 1p/19q kodelesyonlu" tanısı için 1p/19q kaybının tespit edilmesi gerekir. Hem astrositomalarda hem de oligodendrogliomalarda IDH mutasyonları gösterebildiğinden 1p/19q durumunun değerlendirilmesi astrositomunun oligodendrogliomadan ayırt edilmesinde çok önemli bir rol oynar. Oligodendroglioma morfolojisi, IDH-mutant genotipi ve 1p/19q kodelesyonu kemoterapiye daha iyi yanıt verme ve daha iyi hayatta kalma ile ilişkilidir. Bu yüzden, 1p ve 19q durumlarının belirlenmesi tedavi kararlarında ve difüz gliomalı hastalarda sonucun tahmin edilmesinde yardımcı olabilir.

3. Test prensibi

Kromojenik *in situ* hibridizasyon (CISH) tekniği hücre preparatlarında spesifik nükleik asit dizilerinin tespit edilmesine ve görüntülenmesine imkan verir. CISH problemleri denen hapten-ışaretleli nükleotid fragmentleri ve preparatlardaki komplementer hedef dizileri birlikte denatüre edilirler ve sonrada hibridizasyon ile birbirine kaynamaları sağlanır. Daha sonra, spesifik olmayan ve bağlanma yapmamış prob fragmentleri güçlü yıkama adımları ile ortamdan uzaklaştırılır. İşaretleli probun dupleks oluşumu sekonder polimerize enzim-konjuge antikorlar tarafından tespit edilen primer (ışaretsiz) antikorlar kullanılarak görüntülenebilir.

Kromojenik substratlar ile meydana gelen enzimatik reaksiyon renkli çöktellerin oluşmasına yol açar. Hibridize olmuş problemler hücre çekirdeğinin bir çekirdek boyası ile zıt boyanmasından sonra ışık mikroskopunda görüntülenebilir.

4. Sağlanan reaktifler

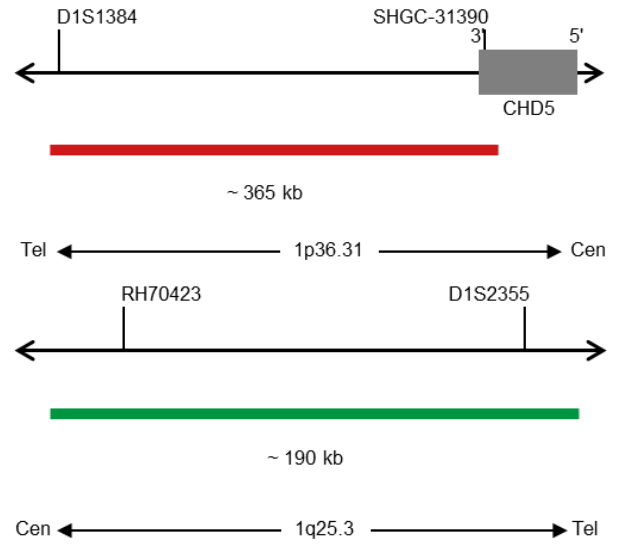
ZytoDot 2C Glioma 1p/19q Probe Set iki probtan oluşan bir settir:

- ZytoDot 2C SPEC 1p36/1q25 Probe (Ürün No. C-3036-100/400)
- ZytoDot 2C SPEC 19q13/19p13 Probe (Ürün No. C-3037-100/400)

ZytoDot 2C 1p36/1q25 Probe (PD21) şunları içerir:

- Digoksigenin-ışaretleli polinükleotidler (~1,7 ng/μl), in 1p36.31* (chr1:5,808,946-6,176,336) konumunda bulunan dizileri hedef alır (bknz. Şekil 1).
- Dinitrofenil-ışaretleli polinükleotidler (~1,7 ng/μl), 1q25.3* (chr1:184,562,510-184,752,938) konumunda bulunan dizileri hedef alır (bknz. Şekil 1).
- Formamid tabanlı hibridizasyon tamponu

*Human Genome Assembly GRCh37/hg19'a göre

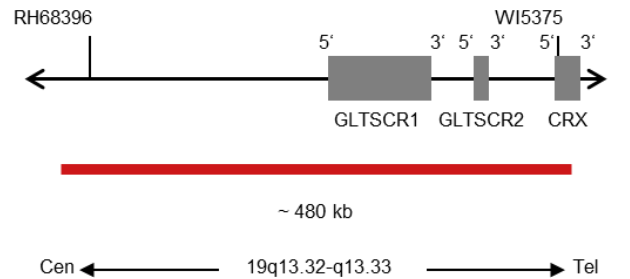


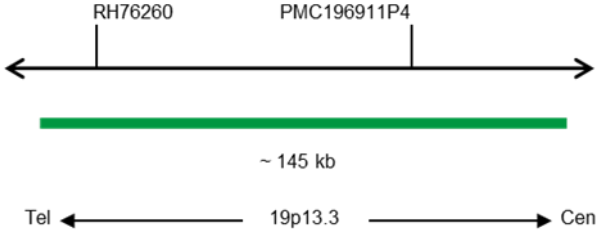
Şekil 1: Üstte: SPEC 1p36 Prob yapısı; Altta: 1q25 Prob yapısı (ölçekli değildir)

ZytoDot 2C 19q13/19p13 Probe (PD22) şunları içerir:

- Digoksigenin-ışaretleli polinükleotidler (~0,8 ng/μl), in 19q13.32-q13.33* (chr19:47,857,776-48,339,398) konumunda bulunan dizileri hedef alır (bknz. Şekil 2).
- Dinitrofenil-ışaretleli polinükleotidler (~0,8 ng/μl), 19p13.3* (chr19:815,938-962,244) konumunda bulunan dizileri hedef alır (bknz. Şekil 2).
- Formamid tabanlı hibridizasyon tamponu

*Human Genome Assembly GRCh37/hg19'a göre





Şekil 2: Üstte: SPEC 19q13 Prob yapısı; Alta: 19p13 Prob yapısı (ölçekli değildir)

ZytoDot 2C 2C Glioma 1p/19q Probe Set iki şekilde temin edilir:

- C-3076-10: İki ayrı prob 10'ar μ l olarak 10 reaksiyon için yeterlidir.
- C-3076-40: İki ayrı prob 10'ar μ l olarak 40 reaksiyon için yeterlidir.

5. Gerekli diğer malzemeler

- ZytoDot 2C CISH Implementation Kit (Ürün No. C-3044-10/-40)
- Pozitif ve negatif kontrol örnekleri
- Mikroskop lamları, pozitif yüklü
- Su banyosu (80°C, 98°C)
- Hibridizasyon cihazı veya sıcak levha
- Hibridizasyon cihazı veya hibridizasyon etüvünde nemli kutu
- Ayarlanabilir pipetler (10 μ l, 1000 μ l)
- Boyama kapları veya banyoları
- Zaman Sayacı
- Kalibre edilmiş termometre
- Etanol veya reaktif dereceli alkol
- Ksilen
- Metanol %100
- Hidrojen Peroksit (H₂O₂) %30
- Deiyonize veya distile su
- Lamel (22 mm x 22 mm, 24 mm x 32 mm)
- Lastik yalıtım solüsyonu, örn., Fixogum Rubber Cement (Ürün No. E-4005-50/-125) veya benzeri
- Uygun donanımlı ışık mikroskobu (400-630x)

6. Saklama ve kullanma koşulları

2-8°C'de dik olarak saklayın. Kullandıktan sonra hemen saklama koşullarına ulaştırın. Reaktifleri etiketleri üzerinde belirtilen son kullanma tarihlerinden sonra kullanmayın. Ürün, uygun şekilde kullanıldığında ve saklandığında etiketi üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar kullanılabilir.

7. Uyarılar ve önlemler

- Kullanmadan önce kullanma kılavuzunu okuyun!
- Son kullanma tarihi gelen ürünleri kullanmayın!
- Bu ürün sağlığa zararlı ve potansiyel olarak enfeksiyöz maddeler içerir (düşük konsantrasyonlarda ve hacimlerde). Reaktiflere doğrudan temas etmekten sakının. Uygun önlemleri alın (tek kullanımlık eldiven, koruyucu gözlük ve laboratuvar giysisi giyin)!
- Ürün ile ilgili meydana gelen herhangi bir ciddi kazayı üreticisine ve yerel düzenlemelere uygun olarak yetkililere bildirin!
- Reaktifler cilt ile temas ederse cildi derhal bol miktarda su ile yıkayın!
- Web sitemizde (www.zytovision.com) bir güvenlik bilgi formu bulunmaktadır!
- Aksi açıkça belirtilmemişse reaktifleri tekrar kullanmayın!
- Örnekler arasında çapraz kontaminasyon olmasından ve mikrobakteriyel kontaminasyon olmasından sakının!
- Hibridizasyon ve yıkama aşamaları sırasında örneklerin kurumasına izin verilmemelidir!

Zararlılık ve önlem ifadeleri:

Zararlılık belirleyici bileşen Formamid'tir.



Tehlike

H351	Kansere yol açma şüphesi var.
H360FD	Üremeye zarar verebilir. Doğmamış çocukta hasara yol açabilir.
H373	Uzun süreli veya tekrarlı maruz kalma sonucu organlarda hasara yol açabilir.
P201	Kullanmadan önce özel talimatları okuyun.
P202	Bütün önlem ifadeleri okunup anlaşılmadan elleçlemeyin.
P260	Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumayın.
P280	Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın.
P308+P313	Maruz kalınma veya etkileşme halinde İSE: Tıbbi yardım/bakım alın.
P405	Kilit altında saklayın.

8. Sınırlamalar

- Yalnızca vücut dışı (*in vitro*) tıbbi tanı amaçlı kullanım içindir.
- Yalnızca profesyonel kullanım içindir.
- Yalnızca otomatik olmayan çalışmalarda kullanım içindir.
- Herhangi bir pozitif boyanmanın veya boyanma olmamasının klinik yorumlaması başka tanı testleri ile birlikte klinik geçmiş, morfoloji ve diğer histopatolojik kriterler kapsamında yapılmalıdır. Preparatın boyanmasında kullanılan CISH problemleri, reaktifler, tanı panelleri ve yöntemleri hakkında bilgi sahibi olmak yetkin bir patoloğun sorumluluğudur. Boyama işlemi onaylı ve lisanslı bir laboratuvarında, boyanmış lamların incelenmesinden sorumlu olan ve pozitif ve negatif kontrollerin yeterliliğini garanti eden bir patoloğun gözetiminde yapılmalıdır.
- Örneğin boyanması, özellikle de sinyalin yoğunluğu ve zemin boyanması, örneğin boyamadan önce geçtiği işlem ve hazırlık süreçlerine bağlıdır. Kötü fiksasyon, dondurma, çözme, yıkama, kurutma, ısıtma, kesit alma veya diğer örneklerle ya da sıvılarla kontamine etme artefaktlara veya yanlış sonuçlara yol açabilir. Tutarsız sonuçlar fiksasyon ve gömme yöntemlerindeki değişkenliklerden ve de örneğin kendi içinde olan düzensizliklerden meydana gelebilir.
- Prob yalnızca 4. "Sağlanan reaktifler" bölümünde tanımlanan lokusların tespit edilmesi için kullanılmalıdır.
- Ürünün performansı bu kullanma kılavuzunda tanımlanan prosedürler kullanılarak doğrulanmıştır. Bu prosedürlerde yapılan değişiklikler performansı değiştirebilir ve doğrulanması kullanıcı tarafından yapılmalıdır.

9. Etkileşimli maddeler

Aşağıdaki fiksatifler ISH ile uyumlu değildir:

- Bouin's fiksatif
- B5 fiksatif
- Asidik fiksatifler (örn., pikrik asit)
- Zenker's fiksatif
- Alkoller (tek başına kullanıldığında)
- Civa klorür
- Formaldehit/çinko fiksatif
- Holland'e's fiksatif
- Tamponsuz formalin

10. Örneklerin hazırlanması

Öneriler:

- Herhangi bir hazırlık adımında örnekler arasında çapraz kontaminasyon olmasından sakının çünkü bu durum hatalı sonuçlara yol açabilir.
- Oda sıcaklığında (18-25°C) 24 saat %10 nötral tamponlu formalin ile fiksasyon.
- Örnek büyüklüğü $\leq 0.5 \text{ cm}^3$.
- En üst kalitede parafin kullanın.
- Gömme işlemi 65°C'den daha düşük sıcaklıklarda yapılmalıdır.
- Mikrotom ile 3-5 μm kalınlığında kesitler alın.
- Pozitif yüklü mikroskop lamaları kullanın.
- 50-60°C'de 2-16 saat fikse edin.

11. Ürünün kullanıma hazırlanması

Ürün kullanıma hazırdır. Yeniden sulandırmaya, karıştırmaya veya dilüsyon yapmaya gerek yoktur. Kullanmadan önce probun oda sıcaklığına (18-25°C) ulaşmasına izin verin ve hafifçe karıştırın.

12. Çalışma prosedürü

Örneğin ön işlemi

Örneğin ön işlemini (parafin giderme, proteoliz) [ZytoDot 2C CISH Implementation Kit](#) kullanma kılavuzuna göre yapın.

Denatürasyon ve hibridizasyon

- Ön işlemi yapılmış her bir örneğin üzerine 10 μl prob pipetleyin.
- Örnekleri 22 mm x 22 mm boyutlarında bir lamel ile kapatın (hava kabarcığı bırakmadan) ve lamelin yalıtımını sağlayın.

Yalıtım için lastik solüsyonu (örn., Fixogum) kullanılmasını öneririz.

- Lamları bir sıcak levha üzerine ya da bir hibridizasyon cihazına yerleştirin ve örnekleri 79°C'de 5 dakika denatüre edin.
- Lamları bir nemli kutuya aktarın ve 37°C'de (örn. bir hibridizasyon etüvünde) gece boyu hibridize edin.

Hibridizasyon aşamasında örneklerin kurumaması gerekir.

Hibridizasyon sonrası

Hibridizasyon sonrası işlemleri (yıkama, deteksiyon, zıt boyama, kapama, mikroskop incelemesi) [ZytoDot 2C CISH Implementation Kit](#) kullanma kılavuzuna göre yapın.

13. Sonuçların yorumlanması

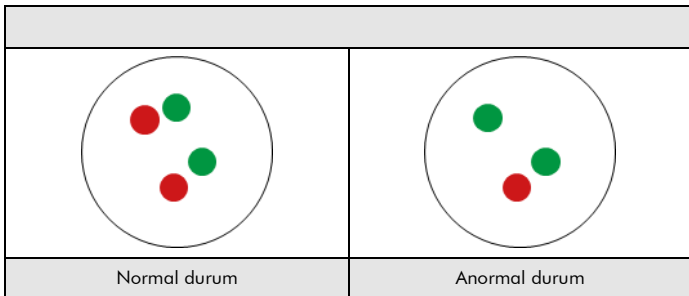
ZytoDot 2C SPEC 1p36/1q25 Probe:

ZytoDot 2C CISH Implementation Kit kullanıldığında Digoksinin-işaretleli polinükleotidlerin hibridizasyon sinyalleri koyu yeşil renkli belirgin noktalar (1q25 lokusu), Dinitrofenil-işaretleli polinükleotidlerin hibridizasyon sinyalleri parlak kırmızı renkli belirgin noktalar (1p36 lokusu) şeklinde gözlenir.

Normal durum: Normal hücrelerin veya 1p36 lokusunu içeren bir delesyonu olmayan hücrelerin interfazlarında iki belirgin nokta-şeklinde kırmızı ve iki belirgin nokta-şeklinde yeşil sinyal görülür (bkz. Şekil 3).

Anormal durum: 1p36 lokusunu etkileyen bir delesyonu olan hücrede daha az sayıda kırmızı sinyal gözlenir. 1p36 lokusunu yalnızca kısmen etkileyen delesyonların sonucunda kırmızı sinyallerin daha düşük boyutta olduğu normal sinyal modeli gözlenebilir (bkz. Şekil 3).

Üst üste gelen sinyaller kahverengi gözükabilir.



Şekil 3: Normal ve anormal hücre çekirdeklerinde beklenen sonuçlar

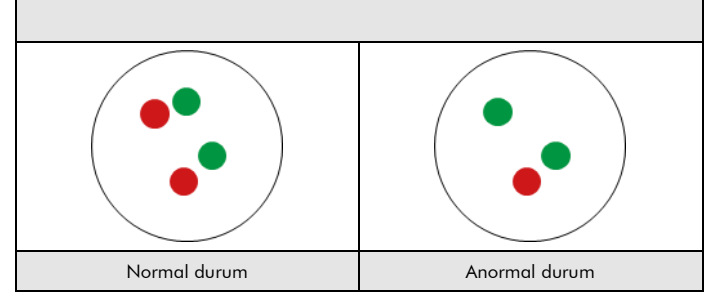
ZytoDot 2C SPEC 19q13/19p13 Probe:

ZytoDot 2C CISH Implementation Kit kullanıldığında Digoksinin-işaretleli polinükleotidlerin hibridizasyon sinyalleri koyu yeşil renkli belirgin noktalar (19p13 lokusu), Dinitrofenil-işaretleli polinükleotidlerin hibridizasyon sinyalleri parlak kırmızı renkli belirgin noktalar (19q13 lokusu) şeklinde gözlenir.

Normal durum: Normal hücrelerin veya 19q13 lokusunu içeren bir delesyonu olmayan hücrelerin interfazlarında iki belirgin nokta-şeklinde kırmızı ve iki belirgin nokta-şeklinde yeşil sinyal görülür (bkz. Şekil 4).

Anormal durum: 19q13 lokusunu etkileyen bir delesyonu olan hücrede daha az sayıda kırmızı sinyal gözlenir. 19q13 lokusunu yalnızca kısmen etkileyen delesyonların sonucunda kırmızı sinyallerin daha düşük boyutta olduğu normal sinyal modeli gözlenebilir (bkz. Şekil 4).

Üst üste gelen sinyaller kahverengi gözükabilir.



Şekil 4: Normal ve anormal hücre çekirdeklerinde beklenen sonuçlar

Bazı anormal örneklerde yukarıda belirtilenden farklı sinyal modelleri gözlenebilir. Bu beklenmeyen sinyal modelleri daha fazla araştırılmalıdır.

Lütfen dikkat edin:

- Kromatinin yoğunluğunu kaybetmesinden dolayı tek CISH sinyalleri küçük kümeler gibi görünebilir. Bu yüzden, aralarında 1 sinyal çapından daha düşük veya ona eşit mesafe bulunan aynı büyüklükteki iki veya üç sinyal tek sinyal sayılmalıdır.
- Sinyal sayımından önce, herhangi bir olası intratümöral heterojenlik bakımından örnek 100 ila 200 büyütmede taranmalıdır.
- Sinyallerin görüntülenmesi en az 400 büyütmede yapılmalıdır, böylece sinyaller daha kolay görüntülenebilir. Kromozom kırılmalarını tespit eden problemler için 630 büyütme önerilir. Kontrast yükseltici filtreler kullanmayın çünkü sinyal renginde bozulma olabilir. Parlak renkli sinyaller elde etmek için apertür diyaframını açın. Bir hücre çekirdeğini değerlendirirken mutlaka odağı yukarıya ve aşağıya doğru değiştirin çünkü kırmızı ve yeşil sinyaller birbirinin üzerinde bulunabilir.
- Nekroz, üst üste gelmiş hücre çekirdekleri, aşırı sindirilmiş hücre çekirdekleri ve sinyal yoğunluğu zayıf olan hücre çekirdekleri bulunan bölgeleri değerlendirmeyin.
- Neoplastik olmayan hücrelerin küçük bir yüzdesinde bile mitoz nedeniyle ilave sinyaller görülebilir. Parafine gömülü örneklerde kesit artefaktları nedeniyle zaman zaman sinyal vermeyen hücre çekirdekleri gözlenebilir.
- Negatif veya spesifik olmayan bir sonuç çok sayıda etken sebebiyle meydana gelebilir (17. Bölüme bakınız).
- Sonuçları doğru yorumlamak için kullanıcı bu ürünü tanı prosedürlerinde kullanmadan önce ulusal ve/veya uluslararası yönergelere göre doğrulamalıdır.

14. Önerilen kalite kontrol prosedürleri

İşlenen örneklerin ve test reaktiflerinin doğru performans gösterdiklerini izlemek için her deneye iç ve dış kontroller dahil edilmelidir. İç ve/veya dış kontroller uygun boyanma göstermezse hasta örnekleri ile alınan sonuçlar geçersiz kabul edilmelidir.

İç kontrol: Örnek içindeki normal sinyal modeli gösteren neoplastik olmayan hücreler, örn., fibroblastlar.

Dış kontrol: Doğrulanmış pozitif ve negatif kontrol örnekleri.

15. Performans özellikleri

Proben performansı dengi olan IVD onaylı FISH probu ile karşılaştırılarak belirlenmiştir. Uyum %100'dür.

Doğruluk: Doğruluk %100 olarak hesaplanmıştır.

Analitik duyarlılık: Analitik duyarlılık %100 olarak hesaplanmıştır.

Analitik özgüllük: Analitik özgüllük %100 olarak hesaplanmıştır.

16. Atık bertarafı

Reaktiflerin bertarafı yerel düzenlemelere uygun olarak yapılmalıdır.

17. Sorun giderme

Çalışma talimatlarına uyulmaması hatalı sonuçların alınmasına veya sonuç alınmamasına sebep olabilir.

Zayıf sinyaller veya hiç sinyal bulunmaması

Olası sebep	Önlem
Hücre veya doku örneği doğru fikse olmamış	Fiksasyon süresini ve fiksatifi optimize edin
Isı ön işlemi, proteoliz, hibridizasyon, denatürasyon, güçlü yıkama veya antikor inkübasyonu sıcaklığı doğru değil	Kullanılan tüm teknik araçların sıcaklığını kalibre edilmiş bir termometre ile kontrol edin. Sıcaklığı kritik olan solüsyonlarda her zaman aynı sayıda lam kullanın.
Proteolitik ön işlem doğru yapılmamış	Fiksasyonun yapısı ve süresi, kesitlerin kalınlığı ve dokunun/hücrelerin yapısı gibi çok sayıda faktöre bağlı olarak farklı inkübasyon süreleri gerekebilir. Ön denemeler yaparak pepsin inkübasyonu için optimum süreyi belirleyin.
Hibridizasyon süresi çok kısa	Hibridizasyonu en az 12 saat yapın; gerekirse hibridizasyon süresini uzatın.
Dehidrasyon solüsyonları eski	Taze dehidrasyon solüsyonları hazırlayın.
Prob buharlaşması	Bir hibridizasyon cihazı kullanırken ıslak şeritlerin / su dolu haznelerin kullanılması zorunludur. Bir hibridizasyon etüvü kullanırken bir nemli kutunun kullanılması gerekir. Ayrıca, hibridizasyon sırasında örneğin kurummasını önlemek için lamel iyice yalıtılmalıdır (örn. Fixogum ile)
Kromojenik substrat inkübasyon süresi çok kısa	İnkübasyon süresini uzatın
Zıt boyama süresi çok uzun	Zıt boyama süresi örneğin yapısına bağlıdır ve buna göre optimize edilmelidir. Koyu zıt boyanma olmasından kaçının çünkü pozitif boyanma sinyallerini engelleyebilir.
Zıt boyamada mavileştirme düzgün yapılmamış	Mavileştirme için soğuk akan çeşme suyu kullanın; ılık veya sıcak su ya da mavileştirme reaktifleri kullanmayın

Sinyaller çok kuvvetli

Olası sebep	Önlem
Yapılan proteoliz ön işlemi çok uzun	Fiksasyonun yapısı ve süresi, kesitlerin kalınlığı ve dokunun/hücrelerin yapısı gibi çok sayıda faktöre bağlı olarak farklı inkübasyon süreleri gerekebilir. Ön denemeler yaparak pepsin inkübasyonu için optimum süreyi belirleyin.
AP-Red Solution inkübasyon süresi doğru değil	Gerekirse inkübasyon süresi 5 dakikaya düşürülebilir. Substrat solüsyonunu 25°C'nin üzerine ısıtmayın; yalnızca oda sıcaklığında inkübe edin.

HRP-Green Solution inkübasyon süresi doğru değil	Gerekirse inkübasyon süresi 7 dakikaya düşürülebilir. Substrat solüsyonunu 25°C'nin üzerine ısıtmayın; yalnızca oda sıcaklığında inkübe edin.
--	---

Kırmızı sinyaller çok zayıf

Olası sebep	Önlem
AP-Red Solution güçlü direkt ışığa maruz kalmış	AP-Red Solution'ı güçlü direkt ışıktan korunaklı bir şekilde hazırlayın ve kullanın
AP-Red Solution çok erken hazırlanmış	Kullanmadan hemen önce hazırlayın
AP-Red Solution inkübasyon süresi doğru değil	Gerekirse inkübasyon süresi 15 dakikaya kadar uzatılabilir
Kromojenik substratın hazırlanması yeterli değil	Solution A hacmini artırmayın.

Yeşil sinyaller çok zayıf

Olası sebep	Önlem
HRP-Green ile boyamadan sonraki herhangi bir yıkama adımının inkübasyon süresi çok uzun	Belirtilen inkübasyon sürelerini aşmayın
HRP-Green Solution inkübasyon süresi doğru değil	Gerekirse inkübasyon süresi 15 dakikaya kadar uzatılabilir
Kromojenik substratın hazırlanması yeterli değil	Solution A hacmini artırmayın.

Sinyaller soluk veya birbirine girmiş

Olası sebep	Önlem
Uygun olmayan kapama solüsyonu kullanılmış	Yalnızca kit ile birlikte verilen kapama maddesini veya yabancı madde içermeyen ksilen bazlı kapama solüsyonu kullanın; kapama bandı kullanmayın
Kesitlerin dehidrasyonu düzgün olmamış	Taze etanol ve ksilen solüsyonları kullanın; yalnızca "saf" kalitede ksilen kullanın.

Düzensiz veya yalnızca bazı kısımlarda çok hafif boyanma

Olası sebep	Önlem
Parafin giderme tamamlanmamış	Taze solüsyonlar kullanın; parafin giderme işleminin süresini kontrol edin
Reaktif hacmi çok düşük	Reaktif hacminin doku alanını kaplamaya yetecek miktarda olmasını sağlayın
Hibridizasyon öncesinde veya kapama sırasında hava kabarcıkları kalmış	Hava kabarcığı bırakmayın

Tutarsız sonuçlar

Olası sebep	Önlem
Proben uygulanmasından önce yeterli kurutma yapılmamış	Havada kuruma süresini uzatın
Pepsinin, antikorların ve/veya renk substratlarının uygulanmasından önce doku üzerinde çok fazla su/yıkama tamponu kalmış	Doku kesiti üzerindeki fazla sıvının emdirilerek veya lamı sallayarak giderilmesini sağlayın. Küçük miktardaki su/yıkama tamponu kalıntısı teste etki etmez
Dokunun fiksasyon ve gömme yöntemlerinde değişiklikler var	Fiksasyon ve gömme yöntemlerini optimize edin

Doku kesiti kalınlığında değişiklikler var	Kesit almayı optimize edin
--	----------------------------

Doku morfolojisi bozulmuş

Olası sebep	Önlem
Hücre veya doku örneği doğru fikse olmamış	Fiksasyon süresini ve fiksatifi optimize edin
Proteolitik ön işlem doğru yapılmamış	Pepsin inkübasyon süresini optimize edin; gerekirse artırın veya düşürün.

Çapraz hibridizasyon sinyalleri, kötü zemin

Olası sebep	Önlem
Güçlü yıkama sıcaklığı doğru değil	Kullanılan tüm teknik araçların sıcaklığını kalibre edilmiş bir termometre ile kontrol edin. Sıcaklığı kritik olan solüsyonlarda her zaman aynı sayıda lam kullanın. Sıcaklık inkübasyonu olan adımlarda sekizden fazla lam kullanılmamasını öneririz
Lamlar iyice yıkanmamış	Belirtilen adımlarda taze ve yeterli miktarda yıkama tamponu ve deiyonize veya distile su kullanın.
Kesitler hibridizasyon sırasında veya sonrasında bir zaman kurumuş	Kesitlerin kurumasını önleyin; nemli kutu kullanın; lameli düzgün şekilde yalıtın
Substrat inkübasyon süresi uzun	Substrat inkübasyon süresini düşürün
Parafin giderme tamamlanmamış	Taze solüsyonlar kullanın; parafin giderme işleminin süresini kontrol edin
Proteolitik ön işlem çok güçlü	Pepsin inkübasyon süresini optimize edin
Lamlar hibridizasyondan önce oda sıcaklığına soğutulmuş	Lamları çabucak hibridizasyon sıcaklığına aktarın

Sinyaller üst üste gelmiş

Olası sebep	Önlem
Doku kesitlerinin kalınlıkları uygun değil	3-5 µm kalınlığında mikrotom kesitleri alın

Örnek lama iyi yapışmamış

Olası sebep	Önlem
Lamın kaplaması uygun değil	Uygun lamlar (pozitif yüklü) kullanın
Proteolitik ön işlem çok güçlü	Pepsin inkübasyon süresini düşürün

18. Literatür

- Barbashina V, et al. (2005) *Clin Cancer Res* 11: 1119-28.
- Cairncross JG, et al. (1998) *J Natl Cancer Inst* 90: 1473-9.
- Cairncross G, et al. (2013) *J Clin Oncol* 31: 337-43.
- Caron H, et al. (1996) *N Engl J Med* 334: 225-30.
- Griffin CA, et al. (2006) *J Neuropathol Exp Neurol* 65: 988-94.
- Louis DN, et al. (ed.) (2016) *WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System* (Revised 4th Edition).
- Lass U, et al. (2013) *Brain Pathol* 23: 311-8.
- Ragnarsson G, et al. (1999) *Br J Cancer* 79: 1468-74.
- Reifemberger G, et al. (2017) *Nat Rev Clin Oncol* 14: 434-52.
- Rosenberg JE, et al. (1996) *Oncogene* 13: 2483-5.
- Smith JS, et al. (1999) *Oncogene* 18: 4144-52.
- Smith JS, et al. (2000) *Genes Chromosomes Cancer* 29: 16-25.
- Wilkinson DG: *In Situ Hybridization, A Practical Approach*, Oxford University Press (1992) ISBN 0 19 963327 4.

19. Revizyon

Kullanma kılavuzlarının en güncel ve farklı dillerdeki versiyonlarına ulaşmak için www.zytovision.com sitesine bakın.

Uzmanlarımız sorularınızı yanıtlamaya hazırdır. Lütfen helptech@zytovision.com adresine yazınız.



ZytoVision GmbH
Fischkai 1
27572 Bremerhaven/ Germany
Telefon: +49 471 4832-300
Faks: +49 471 4832-509
www.zytovision.com
E-posta: info@zytovision.com

Ticari markalar:

ZytoVision® ve ZytoDot® ZytoVision GmbH'nin ticari markalarıdır.