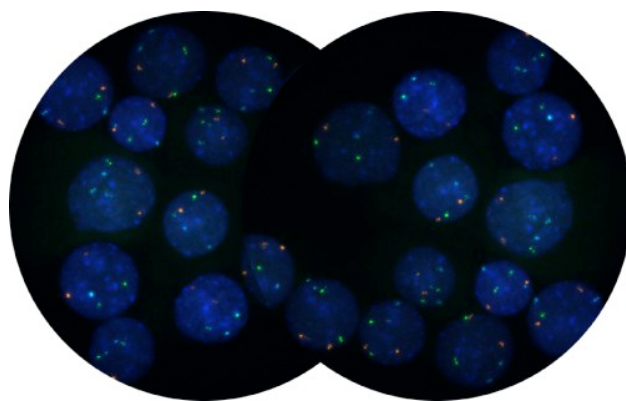




# Sonde ADN FISH de CytoTest Mode d'emploi



Applicable aux groupes de références suivants

CT-PAC  
CT-LSP  
CT-CCP

## Table des matières

### Informations sur le produit

Symboles .....	3
Utilisateur prévu .....	3
Nom commun du produit.....	3
Usage prévu.....	3
Indications .....	3
Contre-indications.....	4
Principes de procédure .....	4
Description du produit .....	4
Avertissements et précautions .....	5
Conservation et manipulation .....	5
Matériel fourni .....	5
Équipement de laboratoire nécessaire mais non fourni .....	5

### Procédure d'analyse

<u>Procédure FISH pour spécimens FFPE</u>	
Réactifs nécessaires mais non fournis .....	5
Préparation des solutions .....	6
Procédure FISH pour les coupes de tissu incluses en paraffine .....	6
<u>Procédure FISH pour spécimens cytologiques</u>	
Réactifs nécessaires mais non fournis .....	7
Préparation des solutions .....	7
Procédure FISH en cytologie .....	9
<u>Procédure FISH pour spécimens de liquide amniotique</u>	
Réactifs nécessaires mais non fournis .....	10
Préparation des solutions .....	10
Procédure FISH pour amniocytes .....	12

### Interprétation des résultats

Motifs des signaux pour sondes d'amplification/de délétion .....	13
Motifs des signaux pour sondes de séparation.....	13
Motifs pour sondes de fusion/de translocation.....	13

### Suppléments

Références.....	14
Informations sur le fabricant.....	14
Informations sur le représentant CE autorisé .....	14

## INFORMATIONS SUR LE PRODUIT

### Symboles



Numéro de catalogue



Nom et adresse du fabricant



Dispositif de diagnostic médical *In vitro*



Représentant autorisé dans la Communauté européenne



Contient assez de réactifs pour < n > tests



Danger Biological



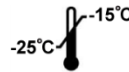
Número du lot



Consultez le mode d'emploi



Utilisez avant le DD/MM/AAAA



Température minimum/maximum



Non stérile

### Utilisateur prévu

Les sondes FISH de CytoTest sont réservées à **une utilisation professionnelle uniquement.**

### Nom commun du produit

Sondes ADN d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH)

### Usage prévu

Les sondes FISH sont destinées aux analyses visant à détecter une anomalie cytogénique ou chromosomique connue ou présumée.

### Indications

L'évaluation initiale de nombreuses malignités hématologiques ou autres inclut en général des analyses morphologiques, histologiques, immunophénotypiques (cytométriques en flux et/ou immunohistochimiques), et cytogéniques conventionnelles. L'analyse FISH peut faire partie intégrante de l'évaluation diagnostique pour les maladies impliquant des aberrations génomiques, en plus, ou à la suite d'un caryotype classique, mais plus particulièrement :

1. En cas d'anomalies avec une faible fréquence, mais un pourcentage bien documenté, de résultats cytogénétiques faux négatifs, surtout dans les cas où les paramètres cliniques, hématologiques, et pathologiques suggèrent une anomalie spécifique
2. En cas d'anomalies avec une grande fréquence de résultats cytogénétiques faux négatifs
3. Pour analyser l'interphase, lorsque les cytogénétiques traditionnelles échouent ou ne sont pas possibles, sur des tissus

fixés

4. Pour clarifier des résultats anormaux ou complexes d'un caryotype classique ; et
5. Comme marqueur de substitution pour un évènement génétique primaire

#### Contre-indications

Le dispositif doit être utilisé dans les limites suivantes :

1. Le produit n'est pas fait pour être utilisé dans des contextes à haut risque tels que le choix de la thérapie, la prévision de réponse thérapeutique ou le dépistage de maladie. L'utilisation de ce dispositif pour évaluer les risques, surveiller les maladies, et établir des diagnostics et des pronostics n'a pas été testée.
2. Les informations cliniques, pathologiques, et autres pertinentes doivent toujours être mises en relation avec les résultats du test FISH sur les échantillons du patient. Le statut clinique du patient doit être pris en considération lors de la réalisation du test et de l'utilisation des résultats.
3. Le test FISH n'est pas approprié pour déterminer les anomalies suivantes :
  - a. Une ou plusieurs mutations dans l'ADN cible,
  - b. Toute autre aberration au niveau des nucléotides,
  - c. Des délétions, insertions, ou inversions mineures (sous le kb)
  - d. L'identification du point de cassure au niveau de la paire de bases
4. Ce test ne permet pas de déterminer le niveau d'expression des gènes et le type de transcription, ni de mesurer la quantité ou l'intégrité du produit génique.
5. Interprétation des résultats : dans de rares cas, des signaux inhabituels peuvent être observés. Ces motifs inattendus peuvent avoir une signification inconnue que ce test ne peut interpréter seul. L'analyse de métaphase peut être utile pour décrire certains signaux atypiques ou inattendus.
6. Les caractéristiques de performance de la sonde FISH ont été validées sur des échantillons de lymphocytes de sang périphérique humain ainsi que de tissus.
7. L'utilisation de ce dispositif pour tester d'autres types d'échantillons n'a pas été testée en profondeur et pourrait nécessiter une optimisation et un ajustement du protocole.

#### Principes de procédure

L'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) est une technique puissante destinée à détecter la présence ou l'absence, l'emplacement, l'intégrité, et la quantité des séquences d'ADN ou d'ARN dans les tissus, les cellules, ou les chromosomes. La méthode FISH consiste à détecter des séquences spécifiques en couplant les bases (hybridation) sur des simples brins complémentaires d'acide nucléique. Ici, l'un des brins est un fragment de séquence marqué par fluorescence (sonde) qui ne se lie qu'aux parties du génome dont les séquences sont hautement ou totalement complémentaires avec la séquence sonde, et l'autre brin est présent dans l'échantillon à analyser. Par conséquent, l'hybridation *in situ* commence par la préparation de l'échantillon à analyser ainsi que de la sonde. L'ADN classique à double brin doit être fondu (dénaturé) en deux simples brins et la sonde doit être marquée par fluorescence afin de pouvoir être détectée.

#### Description du produit

Les sondes FISH de CytoTest sont des dispositifs de diagnostic médical *in vitro* et sont fabriquées à partir d'ADN génomique obtenu de chromosomes humains microdisséqués ou de fragments d'ADN clonés, selon le type de sonde.

Pour de meilleurs résultats, le microscope doit être réglé sur un filtre compatible avec la fluorescence des sondes.

Fluorochrome	Pic d'excitation (nm)	Pic d'émission (nm)	Compatibilité avec autres marqueurs
CytoRed™	583	605	SpectrumRed Iodure de propidium (543-614)
CytoOrange™	551	575	SpectrumOrange

CytoGold™	523	549	SpectrumGold
CytoGreen™	495	518	SpectrumGreen Isothiocyanate de fluorescéine (FITC)
CytoAqua™	422	471	SpectrumAqua
CytoBlue™	402	421	SpectrumBlue (400-450)

#### Avertissements et précautions

Une exposition excessive à la lumière peut entraîner le photoblanchiment des fluochromes de la sonde. Veuillez prendre les précautions adéquates lorsque vous manipulez les réactifs et les lames contenant la sonde, afin d'éviter une exposition directe et prolongée à la lumière. Il est recommandé de suivre les instructions décrites dans le Mode d'emploi lorsque vous manipulez et utilisez les sondes FISH de CytoTest.

Les techniciens en charge de l'expérience doivent porter des vêtements de protection et des gants, et se protéger les yeux et le visage. Les réactifs utilisés dans l'expérience FISH sont susceptibles d'irriter les yeux et la peau; évitez tout contact avec les yeux et la peau. En cas de contact avec les yeux, rincez immédiatement et abondamment à l'eau claire et demandez une assistance médicale.

Une manipulation inadéquate pendant le transport ou le stockage peut potentiellement dégrader ou nuire à la performance du produit. Tous les produits compromis doivent être jetés selon l'une quelconque loi ou la réglementation de votre institution, la région et / ou pays applicable, et les réactifs ne doivent pas être utilisés dans tous les tests. Si vous avez des préoccupations au sujet de la dégradation de la qualité ou la performance du produit, s'il vous plaît communiquer le fabricant ou le distributeur(s) régionale.

#### Conservation et manipulation

Les sondes FISH de CytoTest doivent être conservées entre -15°C et -25°C et à l'abri de la lumière. Évitez de rompre la chaîne du froid. Vérifiez la date d'expiration sur l'étiquette du produit avant de l'utiliser. Ces conditions de conservation et de manipulation s'appliquent tant aux produits ouverts qu'aux produits scellés.

#### Matériel fourni

Sondes ADN FISH de CytoTest fournies dans une concentration prête à l'emploi.

#### Équipement de laboratoire nécessaire mais non fourni

- Micropipette (1 à 10 µL) et embouts propres
- Tubes à microcentrifugation en polypropylène (0,5 mL ou 1,5 mL)
- Lamelles en verre 22 mm x 22 mm
- Colle caoutchouc
- Éprouvette graduée
- Stylo à pointe diamant
- Minuteur
- Forceps
- Cuves Coplin
- Bouteilles graduées (250 mL)
- Thermomètre calibré
- Vortex
- Microcentrifugeuse
- Bains-marie (37 ± 2°C, 72 ± 2°C, and 80 ± 2°C)
- Incubateur (37 ± 2°C)
- Sécheur de lames
- Microscope à contraste de phase
- Microscope à fluorescence équipé des filtres recommandés

#### **PROCÉDURE D'ANALYSE**

*(Les conditions de l'expérience dans ce mode d'emploi sont des recommandations générales qui sont susceptibles de changer, selon la condition de l'échantillon. Certains types peuvent nécessiter des ajustements.)*

#### **Procédure FISH pour spécimens FFPE**

### Réactifs nécessaires mais non fournis

- Kit de réactifs de prétraitement à la paraffine (Cat No : CT-ACC112-05) :
  - Solution de prétraitement (50 ml) : conserver à température ambiante (TA)
  - Solution tampon à la protéase (62,5 ml, pH 2.0) : conserver à TA
  - Protéase (250 mg) : Lyophilisée, conserver à -20°C
- Kit de réactifs FISH (Cat No : CT-ACC101-20) :
  - Solution tampon 20X chlorure de sodium-citrate de sodium (SSC) : conserver à TA et éviter humidité
  - Contre-coloration 4',6'-diamidino-2-phénylindole (DAPI) : conserver à 4°C à l'abri de la lumière
  - NP-40 (octylphenoxy polyéthoxyéthanol, ou Nonidet P-40) : conserver à TA
- Xylène : conserver à TA
- Éthanol (100%) : conserver à TA
- Eau purifiée : conserver à TA
- HCl concentré (12N) : conserver à TA

### Préparation des solutions

#### 1. Solution 20X SSC (pH 7.0)

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Sel SSC	66 g	20X
H <sub>2</sub> O d dgSSCr (dH <sub>2</sub> O)	250 ml	
TOTAL	250 ml	

#### 2. Solution à la protéase

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Protéase, lyophilisée	250 mg	4 mg/ml
Solution tampon à la	62,5 ml	
TOTAL	62,5 ml	

#### 3. Éthanol 90%

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Éthanol (100%)	90 ml	90%
dH <sub>2</sub> O	10 ml	
TOTAL	100 ml	

#### 4. Éthanol 70%

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Éthanol (100%)	70 ml	70%
dH <sub>2</sub> O	30 ml	
TOTAL	100 ml	

#### 5. Solution de lavage post-hybridation (pH 7.0)

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Solution 20X SSC	10 ml	2X
NP-40	300 µl	0,3%
dH <sub>2</sub> O	90 ml	
TOTAL	100 ml	

### Procédure FISH pour sections de tissu incluses en paraffine

#### Prétraitement des lames

1. Immergez les lames dans le xylène à TA pendant 10 minutes. Répétez l'opération deux fois avec du xylène neuf à chaque fois.

2. Déshydratez les lames dans l'éthanol 100% à TA pendant 5 minutes. Répétez une fois avec de l'éthanol 100% neuf.
3. Laissez sécher les lames à l'air pendant 2 à 5 minutes, si désiré.
4. Immergez les lames dans la solution de prétraitement préchauffée à 80°C pendant 10 minutes.
5. Immergez les lames dans l'eau purifiée à TA pendant 3 minutes.

#### *Prétraitement de la protéase*

1. Immergez les lames dans la solution à la protéase à 37°C pendant 10 à 60 minutes (selon la condition des échantillons) et surveillez la condition des cellules sous un microscope optique.
2. Immergez les lames dans l'eau purifiée à TA pendant 3 minutes.
3. Laissez sécher les lames à l'air pendant 2 à 5 minutes.

#### *Déshydratation des lames*

1. Immergez les lames dans l'éthanol 70% pendant 3 minutes.
2. Immergez les lames dans l'éthanol 90% pendant 3 minutes.
3. Immergez les lames dans l'éthanol 100% pendant 3 minutes.
4. Laissez sécher les lames à l'air.

#### *Préparation de la sonde*

1. Préchauffez la sonde à TA pendant 20 à 30 minutes.
2. Passez brièvement la sonde au vortex.

#### *Co-dénaturation et hybridation*

1. Appliquez 10 µl de sonde sur chaque zone d'hybridation et recouvrez d'une lamelle de 22 mm x 22 mm.  
Scellez les lamelles avec de la colle caoutchouc.
2. Co-dénaturez les lames avec la sonde à 72°C pendant 5 minutes.
3. Placez les lames dans une chambre d'hybridation humidifiée préchauffée et incubez à 37°C pendant 16 heures.

#### *Lavage post-hybridation*

1. Marquez chaque zone d'hybridation sur le dos des lames avec un stylo à pointe diamant.
2. Retirez la colle caoutchouc avec précaution.
3. Immergez les lames dans la solution de lavage post-hybridation à TA pour desserrer les lamelles. Remuez doucement pour retirer les lamelles ; ne les arrachez pas.
4. Immergez les lames dans la solution de lavage post-hybridation préchauffée à 72°C pendant 2 minutes.

#### *Déshydratation des lames*

1. Immergez les lames dans l'éthanol 70% pendant 2 minutes.
2. Immergez les lames dans l'éthanol 90% pendant 2 minutes.
3. Immergez les lames dans l'éthanol 100% pendant 2 minutes.
4. Laissez sécher les lames à l'air à l'abri de la lumière.

#### *Visualisation*

1. Appliquez la contre-coloration DAPI et recouvrez les lames de lamelles.
2. Examinez les lames sous un microscope à fluorescence réglé sur les bons filtres.

## **Procédure FISH pour spécimens cytologiques**

### **Réactifs nécessaires mais non fournis**

- Kit de réactifs FISH (Cat No : CT-ACC101-20) :
  - Sel 20X SSC : conserver à TA, évitez l'humidité
  - Contre-coloration DAPI : conserver à 4°C à l'abri de la lumière
  - NP-40 : conserver à TA
- Pepsine (lyophilisée) : conserver à -20°C ou moins
- Acide chlorhydrique (1N) : conserver à TA
- Formaldéhyde (37%) : conserver à TA
- Tampon phosphate salin (PBS) 10X : conserver à TA
- Éthanol (100%) : conserver à TA

## Préparation des solutions

### 1. Solution 20X SSC (pH 7.0)

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Sel SSC	66 g	20X
dH <sub>2</sub> O	250 ml	
TOTAL	250 ml	

### 2. Solution-mère de pepsine

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Pepsine, lyophilisée	100 mg	100 mg/ml
dH <sub>2</sub> O	1 ml	
TOTAL	1 ml	

Remarque : Maintenez sur de la glace. Formez des aliquotes de 20 µl, conservez à -20°C.

### 3. Solution de travail de pepsine

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
HCl (1N)	1 ml	0,01N
Solution-mère de pepsine	20 µl	0,02 µg/µl
dH <sub>2</sub> O	99 ml	
TOTAL	100 ml	

### 4. Solution 2X SSC

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Solution 20X SSC	10 ml	2X
dH <sub>2</sub> O	90 ml	
TOTAL	100 ml	

### 5. Solution 1X PBS

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Solution 10X PBS	10 ml	1X
dH <sub>2</sub> O	90 ml	
TOTAL	100 ml	

### 6. Solution de formaldéhyde

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Formaldéhyde (37%)	2,7 ml	1%
Solution 10X PBS	10 ml	1X
dH <sub>2</sub> O	89 ml	
TOTAL	100 ml	

### 7. Éthanol 90%

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Éthanol (100%)	90 ml	90%
dH <sub>2</sub> O	10 ml	
TOTAL	100 ml	

### 8. Éthanol 70%



TOTAL 100 ml

---

Solution de lavage post-hybridation 1

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Solution 20X SSC	2 ml	0,4X
NP-40	300 µl	0,3%
dH <sub>2</sub> O	98 ml	
TOTAL	100 ml	

---

9. Solution de lavage post-hybridation 2

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Solution 20X SSC	10 ml	2X
NP-40	100 µl	0,1%
dH <sub>2</sub> O	90 ml	
TOTAL	100 ml	

10.

### Procédure FISH en cytologie

#### *Préparation des lames*

1. Équilibrez les lames dans la solution 2X SSC à TA pendant 2 minutes.
2. Immergez les lames dans la solution de travail de pepsine préchauffée à 37°C pendant 1 à 10 minutes (selon la condition des échantillons) et surveillez la condition des cellules sous un microscope optique.
3. Lavez les lames dans la solution 1X PBS à TA pendant 5 minutes.
4. Post-fixez les lames dans la solution de formaldéhyde à TA pendant 5 minutes.
5. Lavez les lames dans la solution 1X PBS à TA pendant 5 minutes.

#### *Déshydratation des lames*

1. Immergez les lames dans l'éthanol 70% pendant 3 minutes.
2. Immergez les lames dans l'éthanol 90% pendant 3 minutes.
3. Immergez les lames dans l'éthanol 100% pendant 3 minutes.
4. Laissez sécher les lames à l'air.

#### *Préparation de la sonde*

1. Préchauffez les sondes à TA pendant 20 à 30 minutes.
2. Passez brièvement les sondes au vortex.

#### *Co-dénaturation et hybridation*

1. Appliquez 10 µl de sonde sur chaque zone d'hybridation et recouvrez d'une lamelle de 22 mm x 22 mm.  
Scellez les lamelles avec de la colle caoutchouc.
2. Co-dénaturez les lames avec la sonde à 72°C pendant 2 minutes.
3. Placez les lames dans une chambre d'hybridation humidifiée préchauffée et incubez à 37°C pendant 16 heures.

#### *Lavage post-hybridation*

1. Marquez chaque zone d'hybridation sur le dos des lames avec un stylo à pointe diamant.
2. Retirez la colle caoutchouc avec précaution.
3. Trempez la lame dans la solution 2X SSC à TA pour desserrer les lamelles. N'arrachez pas les lamelles.
4. Immergez les lames dans la solution de lavage post-hybridation préchauffée à 72°C pendant 1 minute.
5. Immergez les lames dans la solution de lavage post-hybridation 2 à TA pendant 2 minutes.

6. Laissez sécher les lames à l'air.

#### Visualisation

1. Appliquez la contre-coloration DAPI et recouvrez les lames de lamelles.
2. Examinez les lames sous un microscope à fluorescence réglé sur les bons filtres.

### Procédure FISH pour spécimens de liquide amniotique

#### Réactifs nécessaires mais non fournis

- Kit de réactifs FISH :
  - Sel 20X SSC: conserver à TA, évitez humidité
  - Contre-coloration DAPI: conserver à 4°C à l'abri de la lumière
  - NP-40: conserver à TA
- Pepsine (lyophilisée) : conserver à -20°C ou moins
- Acide chlorhydrique (1N) : conserver à TA
- Formaldéhyde (37%) : conserver à TA
- Solution 10X PBS : conserver à TA
- Éthanol (100%) : conserver à TA

#### Préparation des solutions

##### 1. Solution 20X SSC (pH 7.0)

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Sel SSC	66 g	20X
dH <sub>2</sub> O	250 ml	
TOTAL	250 ml	

##### 2. Solution-mère de pepsine

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Pepsine, lyophilisée	100 mg	100 mg/ml
dH <sub>2</sub> O	1 ml	
TOTAL	1 ml	

Remarque : Maintenez sur de la glace. Formez des aliquotes de 20 µl, conservez à -20°C.

##### 3. Solution de travail de pepsine 1 (pour spécimens non-cultivés)

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
HCl (1N)	1 ml	0,01N
Solution-mère de pepsine	50 µl	0,05 µg/µl
dH <sub>2</sub> O	99 ml	
TOTAL	100 ml	

##### 4. Solution de travail de pepsine 2 (pour spécimens cultivés)

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
HCl (1N)	1 ml	0,01N
Solution-mère de pepsine	20 µl	0,02 µg/µl
dH <sub>2</sub> O	99 ml	
TOTAL	100 ml	

##### 5. Solution 2X SSC

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
----------	------------------	----------------------

Solution 20X SSC	10 ml	2X
dH <sub>2</sub> O	90 ml	
TOTAL	100 ml	

6. Solution 1X PBS

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Solution 10X PBS	10 ml	1X
dH <sub>2</sub> O	90 ml	
TOTAL	100 ml	

7. Solution de formaldéhyde

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Formaldéhyde (37%)	2,7 ml	1%
Solution 10X PBS	10 ml	1X
dH <sub>2</sub> O	89 ml	
TOTAL	100 ml	

8. Éthanol 90%

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Éthanol (100%)	90 ml	90%
dH <sub>2</sub> O	10 ml	
TOTAL	100 ml	

9. Éthanol 70%

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Éthanol (100%)	70 ml	70%
dH <sub>2</sub> O	30 ml	
TOTAL	100 ml	

10. Solution de lavage post-hybridation 1

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Solution 20X SSC	2 ml	0,4X
NP-40	300 µl	0,3%
dH <sub>2</sub> O	98 ml	
TOTAL	100 ml	

11. Solution de lavage post-hybridation 2

Réactifs	Quantité ajoutée	Concentration finale
Solution 20X SSC	10 ml	2X
NP-40	100 µl	0,1%
dH <sub>2</sub> O	90 ml	
TOTAL	100 ml	

## Procédure FISH pour amniocytes

### *Préparation des lames*

Spécimens non-cultivés :

1. Équilibrez les lames dans la solution 2X SSC à 37°C pendant 1 heure.
2. Immergez les lames dans la solution de travail de pepsine 1 préchauffée à 37°C pendant 1 à 10 minutes (selon la condition des échantillons) et surveillez la condition des cellules sous un microscope optique.
3. Lavez les lames dans la solution 1X PBS à TA pendant 5 minutes.
4. Fixez les lames dans la solution de formaldéhyde à TA pendant 5 minutes.
5. Lavez les lames dans la solution 1X PBS à TA pendant 5 minutes.

Spécimens cultivés :

1. Équilibrez les lames dans la solution 2X SSC à TA pendant 2 minutes.
2. Immergez les lames dans la solution de travail de pepsine 2 préchauffée à 37°C pendant 1 à 10 minutes (selon la condition des échantillons) et surveillez la condition des cellules sous un microscope optique.
3. Lavez les lames dans la solution 1X PBS à TA pendant 5 minutes.
4. Fixez les lames dans la solution de formaldéhyde à TA pendant 5 minutes.
5. Lavez les lames dans la solution 1X PBS à TA pendant 5 minutes.

### *Déshydratation des lames*

1. Immergez les lames dans l'éthanol 70% pendant 3 minutes.
2. Immergez les lames dans l'éthanol 90% pendant 3 minutes.
3. Immergez les lames dans l'éthanol 100% pendant 3 minutes.
4. Laissez sécher les lames à l'air.

### *Préparation de la sonde*

1. Préchauffez les sondes à TA pendant 20 à 30 minutes.
2. Passez brièvement les sondes au vortex.

### *Co-dénaturation et hybridation*

1. Appliquez 10 µl de sonde sur chaque zone d'hybridation et recouvrez d'une lamelle de 22 mm x 22 mm.  
Scellez les lamelles avec de la colle caoutchouc.
2. Co-dénaturez les lames avec la sonde à 72°C pendant 2 minutes.
3. Placez les lames dans une chambre d'hybridation humidifiée préchauffée et incubez à 37°C pendant 16 heures.

### *Lavage post-hybridation*

1. Marquez chaque zone d'hybridation sur le dos des lames avec un stylo à pointe diamant.
2. Retirez la colle caoutchouc avec précaution.
3. Trempez la lame dans la solution 2X SSC à TA pour desserrer les lamelles. N'arrachez pas les lamelles.
4. Immergez les lames dans la solution de lavage post-hybridation préchauffée à 72°C pendant 1 minute.
5. Immergez les lames dans la solution de lavage post-hybridation 2 à TA pendant 2 minutes.
6. Laissez sécher les lames à l'air.

### *Visualisation*

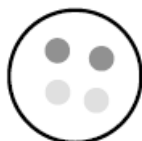
1. Appliquez la contre-coloration DAPI et recouvrez les lames de lamelles.
2. Examinez les lames sous un microscope à fluorescence réglé sur les bons filtres.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

### Motifs pour sondes d'amplification/de délétion

#### *Motifs normaux*

- 2 signaux orange + 2 signaux verts (2O2V)



#### Légende des couleurs

- Signaux orange représentés par points gris foncés
- Signaux verts représentés par points gris clairs

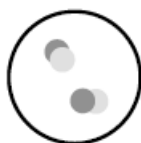
#### *Motifs anormaux*

- Tout autre motif.

### Motifs pour sonde de séparation

#### *Motifs normaux*

- 2 signaux orange-verts se chevauchant (2OV)



#### Légende des couleurs

- Signaux orange représentés par points gris foncés
- Signaux verts représentés par points gris clairs
- Les signaux orange et verts se chevauchant peuvent apparaître en jaune.

#### *Motifs anormaux*

- Tout autre motif.

### Motifs pour sondes de fusion/de translocation

#### *Motifs normaux*

- 2 signaux orange + 2 signaux verts (2O2V)



#### Légende des couleurs

- Signaux orange représentés par points gris foncés
- Signaux verts représentés par points gris clairs

#### *Motifs anormaux*

- Tout autre motif. Les signaux fusionnés (signaux orange et verts superposés) peuvent apparaître en jaune.

## RÉFÉRENCES

1. Andersson S, et al. *Am J Pathol.* 175(5): 1831–1847 (2009).
2. Blackburn EH. *Nature.* 350(6319):569-73 (1991).
3. Cairns P, et al. *Cancer Res.* 57(22):4997-5000 (1997).
4. Chiarle R, et al. *Nat Rev Cancer.* 8(1):11-23 (2008).
5. Chu EC & Tarnawski AS. *Med Sci Monit.* 10(10):RA235-41 (2004).
6. Coussens L, et al. *Science.* 230(4730):1132-9 (1985).
7. Djulbegovic M, et al. *BMJ.* 341:c4543 (2010).
8. Druker BJ, et al. *N Engl J Med.* 355(23):2408-17 (2006).
9. Ernst T, et al. *Hematol Oncol Clin North Am.* 25(5):997-1008, v-vi (2011).
10. Foulkes WD, et al. *Mol Med.* 3(1):5-20 (1997).
11. Gonzalez S, et al. *Nature.* 440(7084):702-6 (2006).
12. Heselmeyer K, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93(1):479-84 (1996).
13. Heselmeyer-Haddad K, et al. *Cancer Res.* 62(8):2365-9 (2002).
14. Heselmeyer-Haddad K, et al. *Am J Pathol.* 166(4): 1229-1238 (2005).
15. Kamb A, et al. *Science.* 264(5157):436-40 (1994).
16. Kwak EL, et al. *N Engl J Med.* 363(18):1693-703 (2010).
17. Krimpenfort P, et al. *Nature.* 413(6851):83-6 (2001).
18. Landstrom AP & Tefferi A. *Leuk Lymphoma.* 47(3):397-402 (2006).
19. Minoo P & Wang HY. *Int J Clin Exp Pathol.* 5(5):397-410 (2012).
20. Nowell PC, Hungerford DA. *J Natl Cancer Inst.* 25:85-109 (1960).
21. Pathmanathan N & Bilous AM. *Pathology.* 44(7):587-95 (2012).
22. Pauletti G, et al. *J Clin Oncol.* 18(21):3651-64 (2000).
23. Rowley JD. *Nature.* 243(5405):290-3 (1973).
24. Salido M, et al. *J Thorac Oncol.* 6(1):21-7 (2011).
25. Sasaki T, et al. *Eur J Cancer.* 46(10):1773-80 (2010).
26. Sharpless E & Chin L. *Oncogene.* 22(20):3092-8 (2003).
27. Shay JW & Bacchetti S. *Eur J Cancer.* 33(5):787-91 (1997).
28. Slamon DJ, et al. *Science.* 235(4785):177-82 (1987).
29. Steck PA, et al. *Nat Genet.* 1997 Apr;15(4):356-62 (1997).
30. Yoshimoto M, et al. *Br J Cancer.* 97(5):678–685 (2007).

### Fabricant



CytoTest Inc.  
9430 Key West  
Suite 210  
Rockville, MD 20850  
USA

Tél : +1-202-688-1188  
Fax : +1-301-296-6950  
E-mail : sales@cytotest.com

### Représentant autorisé CE



Obelis S.A.  
Bd. General Wahis 53  
1030 Bruxelles  
Belgique

Tél : +32-2-732-59-54  
Fax : +32-2-732-60-03  
E-mail : mail@obelis.net

Copyright © 2015 CytoTest, Inc.

Tous droits réservés.

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