

ZytoFast[®] PLUS Products for CISH analysis

Para - hibridação de **DNA**, ex: HPV, CMV
- hibridação de **RNA**, ex: EBV, κ/λ
de amostras fixadas em formol e impregnadas em parafina
Passos específicos para detecção de RNA marcados a

1) Passos preparatórios

- Preparar 1x Wash Buffer TBS
DAB Solution (Antes de utilizar)
3% H₂O₂ em metanol
- Pré-aquecer Sonda a 37°C/55°C
Heat Pretreatment Solution EDTA a 98°C
1 tina de coloração com 1x Wash Buffer TBS a 55°C
Restantes reagentes à temperatura ambiente (TA)

2) Desparafinar

- Aquecer lâminas 10 min 70°C
- Incubar Xilol 98-100% 2x 5 min TA
- Incubar Álcool 100% 3x 3 min TA

3) Pré-tratamento

- Incubar 3% H₂O₂/methanol 5 min TA
- Lavar Água destilada 2x 1 min TA
- Aplicar Solução de Pepsina variável 37°C
- Imergir Água destilada TA
- Incubar Heat Pretreatment Solution EDTA 15 min 98°C
- Imergir Água destilada TA
- Secar ao ar

Este é um protocolo resumido para os produtos ZytoFast[®] e não substitui o manual fornecido com cada produto.

ZytoFast[®] PLUS Products for CISH analysis

4) Hibridação

- Aplicar Sonda, 10 µl
- Cobrir com lamela, selar
- Desnaturar 5 min 75°C
- Hibridar 60 min 37°C/55°C

5) Pós-hibridação

- Lavar 1x Wash Buffer TBS 5 min TA
(Remover lamela)
- Lavar 1x Wash Buffer TBS 5 min 55°C
- Lavar 1x Wash Buffer TBS 5 min TA

6) Detecção

- Aplicar Mouse-Anti-DIG 30 min 37°C
- Lavar 1x Wash Buffer TBS 3x 1 min TA
- Aplicar Anti-Mouse-HRP-Polymer 30 min 37°C
- Lavar 1x Wash Buffer TBS 3x 1 min TA
- Aplicar DAB Solution 20 min 37°C
- Lavar Água destilada 3x 1 min TA
- Contrastar Nuclear Blue Solution 2-5 min TA
- Lavar Lavar em água corrente 2 min TA
- Desidratar Álcool 100% 3x 30 sec TA
- Incubar Xilol 98-100% 2x 30 sec TA
- Cobrir com Mounting Solution (alcoólica)
- Secar ao ar aprox. 30 min TA

DAB-Detecção

DAB-Detecção

ZytoFast[®] PLUS Products for CISH analysis

Para - hibridação de **DNA**, ex: HPV, CMV
- hibridação de **RNA**, ex: EBV, κ/λ
de amostras fixadas em formol e impregnadas em parafina
Passos específicos para detecção de RNA marcados a

1) Passos preparatórios

- Preparar 1x Wash Buffer TBS
DAB Solution (Antes de utilizar)
3% H₂O₂ em metanol
- Pré-aquecer Sonda a 37°C/55°C
Heat Pretreatment Solution EDTA a 98°C
1 tina de coloração com 1x Wash Buffer TBS a 55°C
Restantes reagentes à temperatura ambiente (TA)

2) Desparafinar

- Aquecer lâminas 10 min 70°C
- Incubar Xilol 98-100% 2x 5 min TA
- Incubar Álcool 100% 3x 3 min TA

3) Pré-tratamento

- Incubar 3% H₂O₂/methanol 5 min TA
- Lavar Água destilada 2x 1 min TA
- Aplicar Solução de Pepsina variável 37°C
- Imergir Água destilada TA
- Incubar Heat Pretreatment Solution EDTA 15 min 98°C
- Imergir Água destilada TA
- Secar ao ar

Este é um protocolo resumido para os produtos ZytoFast[®] e não substitui o manual fornecido com cada produto.

ZytoFast[®] PLUS Products for CISH analysis

4) Hibridação

- Aplicar Sonda, 10 µl
- Cobrir com lamela, selar
- Desnaturar 5 min 75°C
- Hibridar 60 min 37°C/55°C

5) Pós-hibridação

- Lavar 1x Wash Buffer TBS 5 min TA
(Remover lamela)
- Lavar 1x Wash Buffer TBS 5 min 55°C
- Lavar 1x Wash Buffer TBS 5 min TA

6) Detecção

- Aplicar Mouse-Anti-DIG 30 min 37°C
- Lavar 1x Wash Buffer TBS 3x 1 min TA
- Aplicar Anti-Mouse-HRP-Polymer 30 min 37°C
- Lavar 1x Wash Buffer TBS 3x 1 min TA
- Aplicar DAB Solution 20 min 37°C
- Lavar Água destilada 3x 1 min TA
- Contrastar Nuclear Blue Solution 2-5 min TA
- Lavar Lavar em água corrente 2 min TA
- Desidratar Álcool 100% 3x 30 sec TA
- Incubar Xilol 98-100% 2x 30 sec TA
- Cobrir com Mounting Solution (alcoólica)
- Secar ao ar aprox. 30 min TA

DAB-Detecção

DAB-Detecção