

RNAscope™ ISH Probe dapB (Negative Control)

REF 200470

För användning vid *in vitro*-diagnostik.
Endast för amerikansk export.

AVSEDD ANVÄNDNING

RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) är avsedd för användning som negativ kontroll vid en analys av typen RNAscope *in situ*-hybridisering (ISH) i formalinfixerade, paraffinbäddade (FFPE) vävnadsprover. Sonden riktar in sig på mRNA-transkriptioner av dihydrodipikolinatreduktasgenen i *Bacillus subtilis*.

Sonden är avsedd för användning i kliniska laboratorier med BOND RNAscope brun detektering på den automatiska färgningsmaskinen Leica Biosystems BOND-III. Den kliniska tolkningen av alla hybridiserings signaler eller frånvaro av dessa ska utföras av en kvalificerad patolog med lämpliga kontroller, och kompletteras med histologisk undersökning och relevant klinisk information.

PROCEDURPRINCIP

RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) innehåller oligonukleotidsonder utformade för att hybridisera till nukleinsyresekvenser av dihydrodipikolinatreduktasgenen i *Bacillus subtilis* i FFPE-vävnadssektioner. Visualisering sker med hjälp av detekteringsreagenserna i BOND RNAscope brun detektering, vilket leder till en brun kromogen signal som kan utvärderas med hjälp av ett ljusmikroskop.^{1,2} DapB-sonden är en negativ kontrollsond som inte förväntas generera någon signal i mänsklig vävnad. Den negativa kontrollen används för att utvärdera eventuell bakgrundsfärgning eller icke-specifik färgning, i samband med en RNAscope-målsond.

REAGENS SOM TILLHANDAHÅLLS

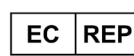
RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) tillhandahålls som en färdig lösning på 14 mL med en oligonukleotidsond i hybridiseringsbuffert innehållande formamid. Kvantiteten som tillhandahålls räcker för att utföra 30 tester. Ingen rekonstitution, blandning, spädning eller titrering krävs.

FÖRVARING OCH STABILITET

- Förvara sonden i 2–8 °C vid mottagande och omedelbart efter användning.
- Oöppnad sond är stabil till och med utgångsdatumet som står tryckt på flaskan. Får inte användas efter utgångsdatumet.
- Sonden är stabil i minst tre veckor efter överföring till en BOND Open Container när den förvaras i 2–8 °C efter användning.

MATERIAL SOM KRÄVS, MEN SOM INTE TILLHANDAHÅLLS

- BOND RNAscope Brown Detection (Leica Biosystems, DS9815)
- BOND Open Container 30 mL (Leica Biosystems, OP309700)
- BOND Epitope Retrieval 2 (Leica Biosystems, AR9640)
- BOND Dewax Solution (Leica Biosystems, AR9222)
- 10X BOND Wash (Leica Biosystems, AR9590)
- BOND-III Slide Stainer (Leica Biosystems) med BOND-programvara v. 5.1 eller senare och BDD v. 82 eller senare.



Avsnittet "Using BOND Reagents" (Använda BOND-reagenser) i BOND-bruksanvisningen identifierar vanliga material som krävs för att utföra proceduren på BOND-instrumentet.

TESTPROVER

Prover måste vara formalinfixerad, paraffinbäddad (FFPE) human orofarynxkarcinomvävnad. Fixera vävnader i 10% neutralbuffrad formalin (NBF) och sektionsvävnadsblock i 4–5 µm tjocklek. Färga proverna inom tre veckor efter att de monterats på objektglasen när de förvaras i rumstemperatur (20–25 °C).

FÄRGNINGSPROCEDUR

Provfärgning ska utföras av laboratoriepersonal som utbildats i histologiska procedurer och användning av BOND-III-instrumentet.

Färgningsproceduren för RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) ska vara identisk med den som används för målsonden i en RNAscope-analys. Kör en negativ sondkontroll för varje patientprov med en angränsande seriell sektion.

TOLKNING AV RESULTATEN

Tolkning av prover ska utföras av en kvalificerad anatomipatolog.

Signal visas som bruna kromogena prickar, synliga med hjälp av ett ljusmikroskop med objektivlins på 20X eller 40X.

Godkänd dapB-signal består av ingen färgning eller endast svag, fokal färgning som tillåter otvetydig tolkning av RNAscope-målsonden.

Om diffus signal förekommer över tumörområdet ska RNAscope-målsonden inte tolkas.

PRESTANDAEGENSKAPER

Analytisk specificitet

Analytisk specificitet har testats med hjälp av plasmider innehållande en del av dapB-gensekvensen som identifierats och tvärbundits till objektglas. RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) har testats på plasmidobjektglaset. dapB-plasmiden detekterades, medan andra, orelaterade sekvenser inte detekterades.

Analytisk precision

Reproducerbarheten för färgningsprestanda för RNAscope ISH Probe dapB (Negative Control) har utvärderats under flera dagar, på olika instrument och med olika sondpartier.

Precisionen mellan dagar bedömdes över fem dagar, med hjälp av ett sondparti och ett BOND-III-instrument. En sektion av fem FFPE-vävnader färgades under varje dag. Den totala procentuella överensstämmelsen för ISH-signal mellan dagar beräknades som 100% för 25 utvärderade sektioner.

Precisionen mellan instrument bedömdes med hjälp av ett sondparti och tre BOND-III-instrument. En sektion av vardera fem FFPE-vävnader färgades för varje instrument. Den totala procentuella överensstämmelsen för ISH-signal mellan instrument beräknades som 100% för 15 utvärderade sektioner.

Precisionen mellan partier bedömdes med hjälp av tre sondpartier. En sektion av vardera fem FFPE-vävnader färgades för varje instrument. Den totala procentuella överensstämmelsen för ISH-signal mellan partier beräknades som 100% för 15 utvärderade sektioner.



BEGRÄNSNINGAR

1. Metoden har optimerats för användning på Leica Biosystems BOND-III automatisk färgningsmaskin med hjälp av BOND RNAscope brun detektering och BOND-hjälpreagenser. Användare måste utbildas i hur BOND-III ska användas.
2. Ändringar av procedurerna rekommenderas inte och kan ge felaktiga resultat.
3. Analysen har validerats med mänskliga FFPE-vävnadsprover. Andra provtyper har inte utvärderats.
4. Användning av positiva och negativa kontrollsonder krävs för korrekt tolkning av analysen. Den positiva kontrollsonden verifierar RNA-integriteten i provet. Den negativa kontrollsonden bekräftar att provet är fritt från icke-specifik signal eller störande substanser som försvårar tolkningen.
5. Vävnads- och cellfärgning är beroende av hantering och bearbetning av vävnadsprovet före färgning. Felaktig fixering, frysning, tining, tvättning, torkning, uppvärmning, uppdelning eller kontamination med andra vävnader eller vätskor kan generera artefakter, falska positiva eller falska negativa resultat. Inkonsekventa resultat kan bero på variationer i fixerings- och inbäddningsmetoder, eller på inneboende oregelbundenheter i vävnadsprovet.
6. Falska negativa resultat kan orsakas av nedbrytning av mRNA i vävnaderna över tid. Prover ska färgas inom tre veckor efter att vävnaderna monterats på objektglas när de förvaras i rumstemperatur (20–25 °C).

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Formamide (≤ 50%).



Signalord: Fara.

Riskdeklaration(er)

H351 Misstänks kunna orsaka cancer.

H360 Kan skada fertiliteten eller det ofödda barnet.

H373 Kan orsaka skador på lever, njure och blod.

Skyddsangivelse(r):

P201 Inhämta särskilda instruktioner före användning.

P202 Använd inte produkten innan du har läst och förstått säkerhetsanvisningarna.

P281 Använd föreskriven personlig skyddsutrustning.

P308+P313 Vid exponering eller misstanke om exponering: Kontakta läkare.

P314 Sök läkarhjälp vid obehag.

P405 Förvaras inlåst.

P501 Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning i enlighet med lokala/regionala/nationella/internationella bestämmelser.

1. Undvik direkt kontakt med sonden. Använd lämplig personlig skyddsutrustning för att förhindra exponering för ögon, hud och slemhinnor. Om exponering uppstår ska man skölja med rikligt med vatten.
2. Sondens innehåller material av animaliskt ursprung. Betrakta allt material av humant och animaliskt ursprung som en risk för överföring av smitta. Vidta lämpliga försiktighetsåtgärder för hantering och korrekt kassering.
3. Mikrobiell kontamination kan leda till felaktiga resultat.
4. Se säkerhetsdatabladet för ytterligare säkerhetsinformation på www.bio-techne.com.
5. Rådfråga relevanta myndigheter och läs relevanta förordningar gällande korrekt kassering av sonden.

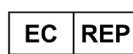
FELSÖKNING



Tillverkad av
Advanced Cell Diagnostics
7707 Gateway Blvd.,
Newark, CA 94560
USA



+1 510-576-8800
bio-techne.com













Qarad EC-REP BV
Pas 257
2440 Geel
Belgien

Sida 3 av 4

Om förväntade resultat inte erhålls med kontrollvävnad ska testet upprepas.

För information om felsökning, kontakta teknisk support på support.acd@bio-techne.com.

SYMBOLDEFINITIONER

 Katalognummer	 Temperaturgräns	 Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik
 Tillverkare	 Batchkod	 CE-märkning
 Förbrukningsdatum	 Läs bruksanvisningen	 Auktoriserad representant inom EU
 Allvarlig hälsorisk		

IMMATERIELLA RÄTTIGHETER

ACD och RNAscope är varumärken som tillhör Advanced Cell Diagnostics, Inc.

BOND är ett varumärke som tillhör Leica Biosystems.

REFERENSER

1. Wilkinson DG. The theory and practice of in situ hybridization. In: Wilkinson DG. (ed.) In situ Hybridization. A practical approach. 2nd Edition. New York: Oxford University Press, 1998, pp.18-20.
2. Wang F, Flanagan J, Su N, Wang LC, Bui S, Nielson A, Wu X, Vo HT, Ma XJ, Luo Y. RNAscope: a novel in situ RNA analysis platform for formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. J Mol Diagn. 2012 Jan;14(1):22-9.

PUBLICERINGSDATUM

20 Maj 2022

