

Fish Uygulamalarının Temel Prensipleri

Uzm.Bio. Onur Dülger
İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi



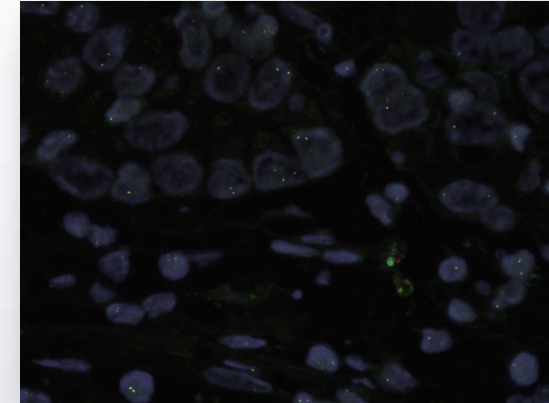
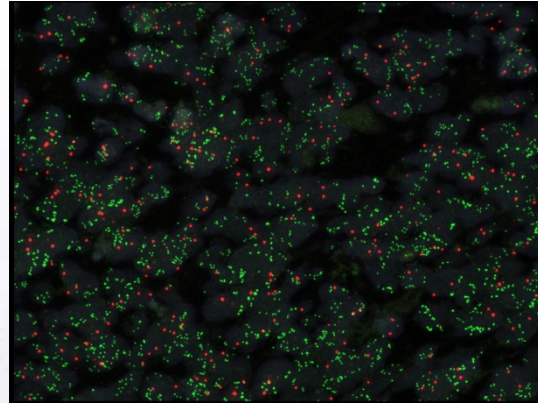
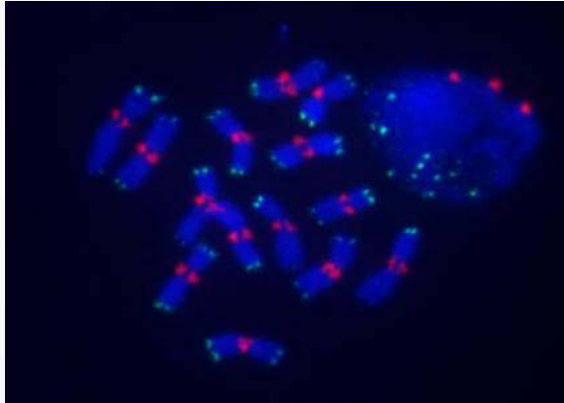
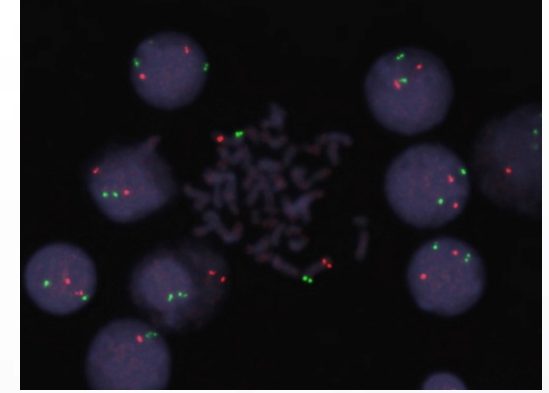
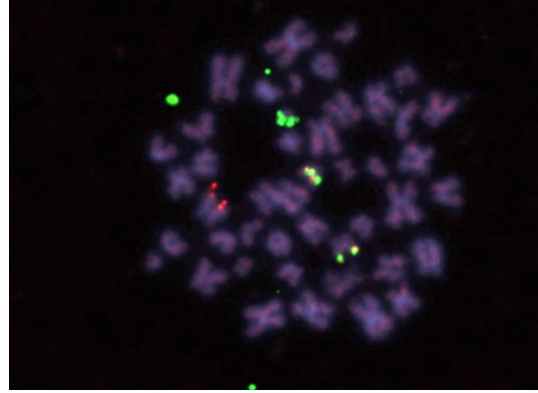
25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Testin hedefi

- Metafaz kromozomu
- İnterfaz çekirdeği
- Doku kesiti
- Hücre kültürü



25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



İyi bir fish

- Kaliteli sinyal

Parlak bütün halinde dağınık olmayan ve soluk görünmeyen sinyaller

- Temiz bir arka plan

Hibridize olmayan prob kalıntıları ve artefakt değerlendirme esnasında gerçek sinyaller ile etkileşim göstermemeli

- Bozulmamış doku ve hücre bütünlüğü

Methodun işlem basamaklarında hassasiyet

- Doğru odak

Analiz edilecek alanın belirlenmesi, neoplastik olmayan hücrelerin değerlendirmeye alınmaması, doku slidelerinde morfolojiye bilerek değerlendirme



25 Ulusal Patoloji Kongresi
6 Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Ne kullanacađız

- Lokus spesifik problemler
- Translokasyon problemleri
- Yeniden dzenlenme (break apart rearrangement) problemleri
- Kromozom problemleri
- Telomerik problemler



25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Temel işlem basamakları

1. Hazırlık prosedürü
2. Prob ekleme
3. Denaturasyon hibridizasyon basamağı
4. Yıkama prosedürü
5. Dapi ile karşıt boyama
6. Floresan inceleme



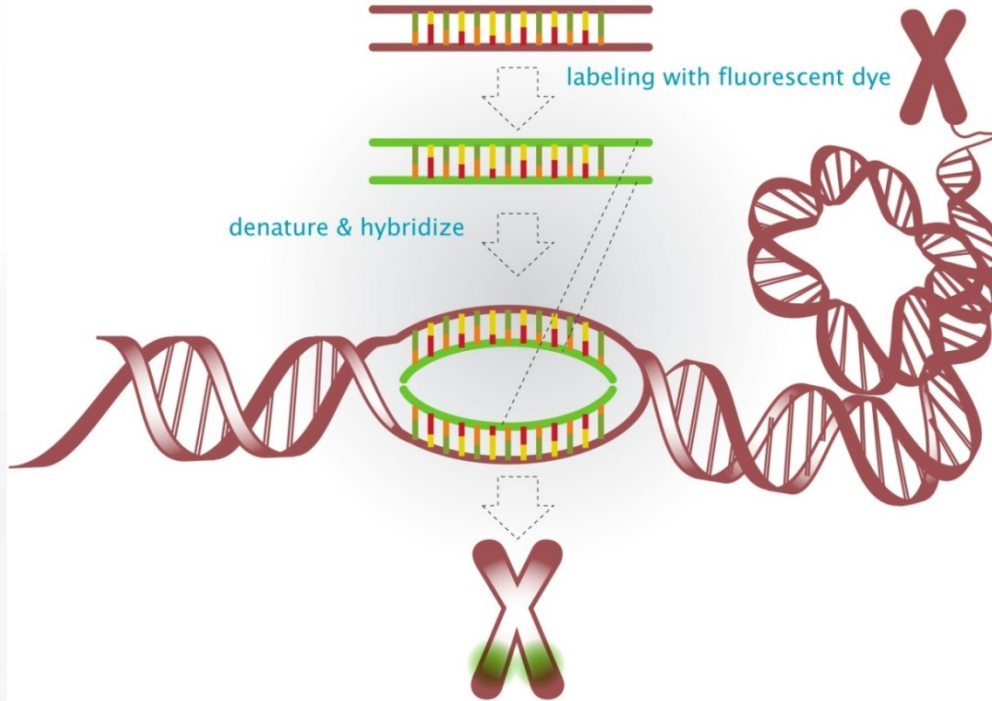
25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Hazırlık Prosedürü

- Standart sitogenetik prosedürler kullanılır. Materyel tipine göre, farklı kit ve pretreatment prosedürlerine göre değişiklikler olacaktır
- Amaç: Hücreleri denaturasyon hibridizasyon aşaması için hazır hale getirmek. İki iplikli Dna'nın ve probun lam üzerinde denature ve hibridize olabilmesi için nükleusların hazırlandığı prosedür aşamasıdır



Hazırlıkta basamakları

Doku materyali

- Deparafinizasyon
- Proteaz işlemi

Hematolojik materyal

- Nükleus Eldesi
- Sabitleme

-Prob uygulaması

-> Denaturasyon hibridizasyon basamağı



25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

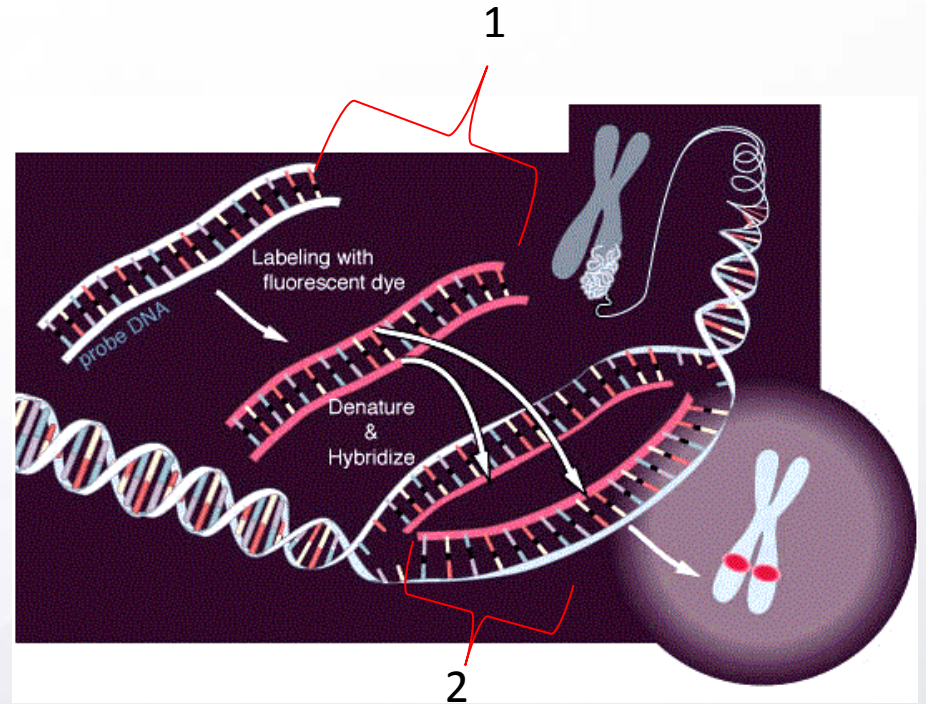
14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Denaturasyon hibridizasyon basamağı

- Prob uygulaması yapılan preparat
- 73 °C denaturasyon 5 min. / 37 °C hibridizasyon 14 – 24 h.

1. Probun ve DNA' nın co denaturasyonu
2. Prob ve hedefin hibridize olması



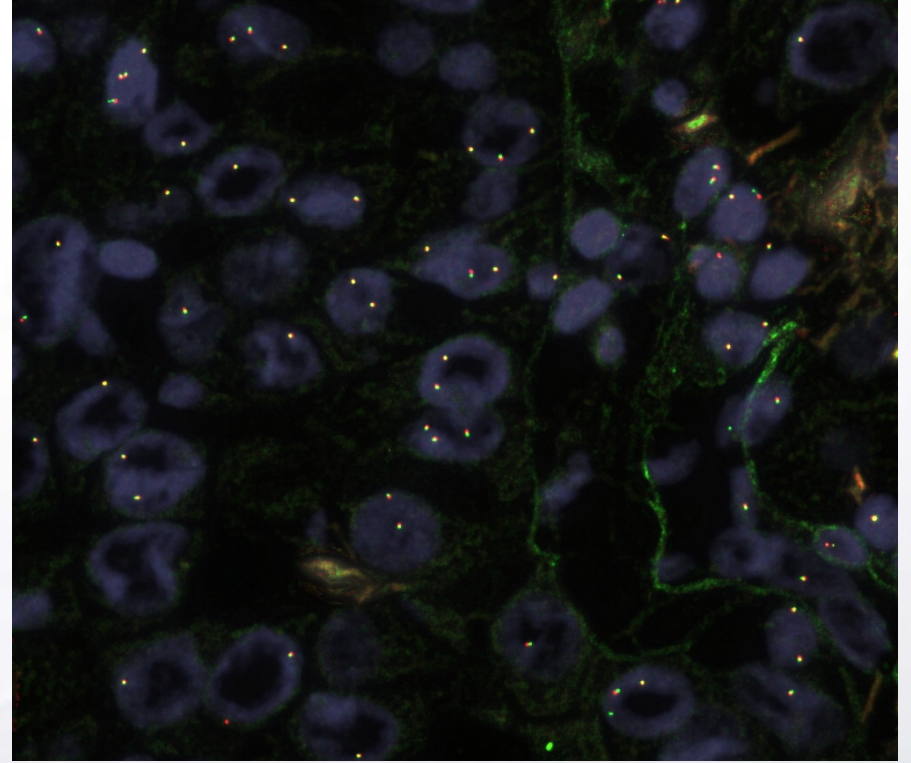
25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Yıkama Prosedürü

- Hibridizasyondan sonra kalan fazla probun preparat üzerinden uzaklaştırılması
- Prob kalıntıları, artefakt sinyallerden artınma



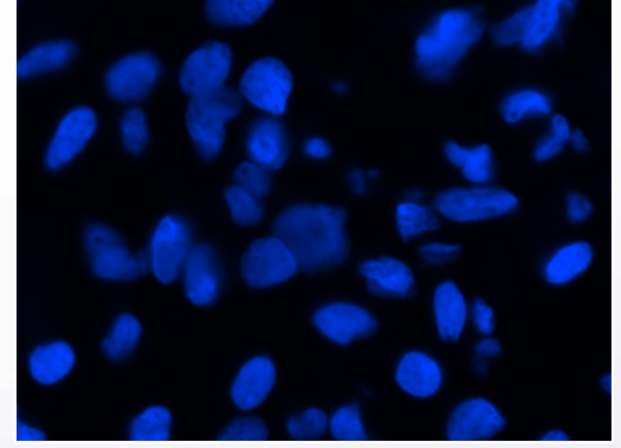
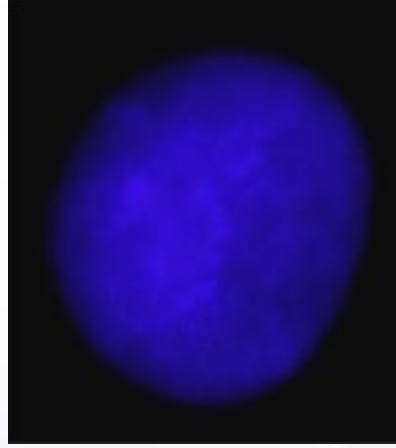
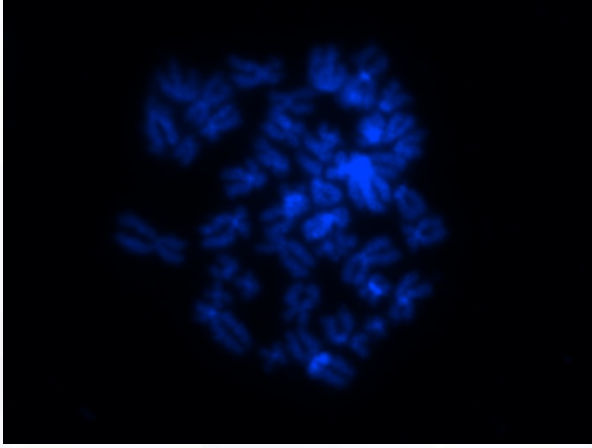
25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Dapi ile karşıit boyama

- Sinyal haricindeki alanı boyar
- Nükleus sınırlarını ve kromozomları ayırt edilebilir hale getirir
- Florofor molekülleri floresan ışıklı görmemizi sağlar



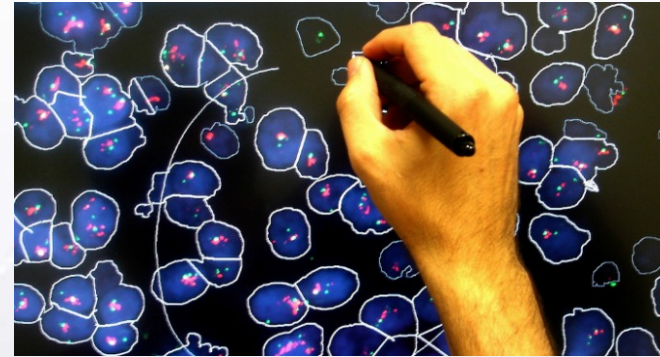
25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Floresan inceleme

- Teste uygun filtreler ile floresan mikroskobunda analiz ve değerlendirme



25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



veya çok zayıf

ik

•

D

g

•

S

•

Prof

•

Yık

yen

rumuşak şekilde yapılarak tekrar



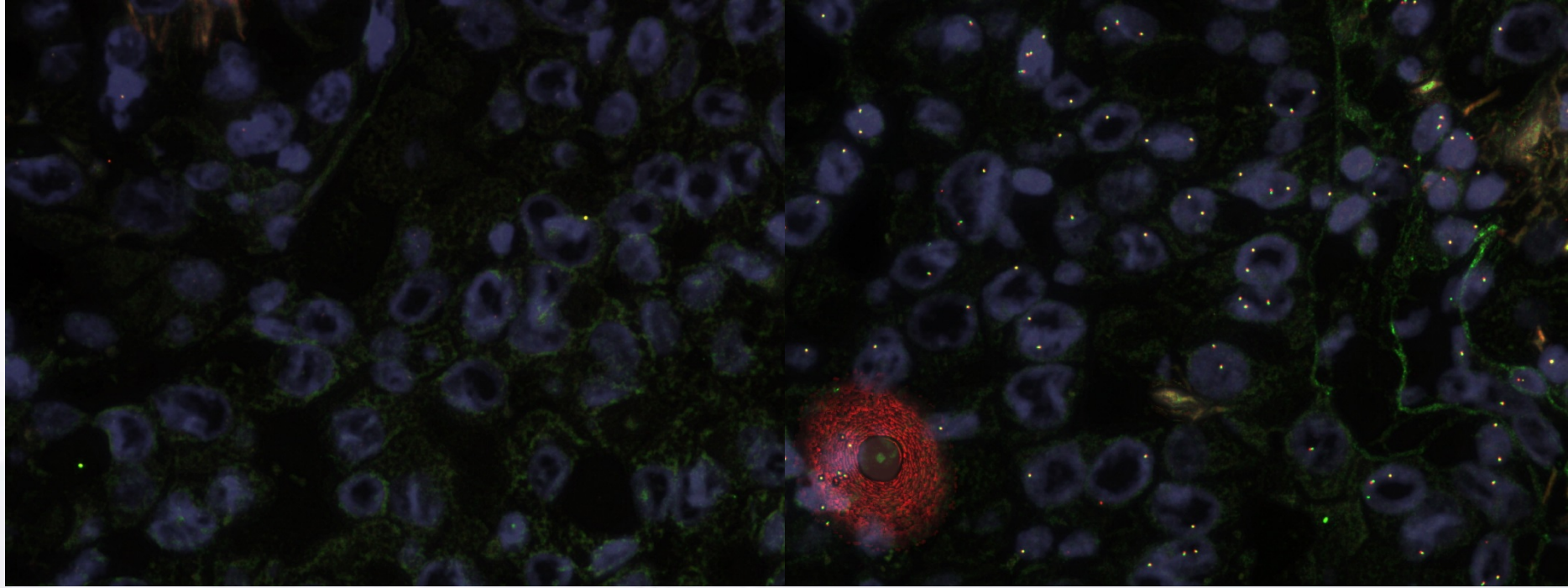
25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Sinyalde heterojenite

- Prob uygulamasında kabarcık kalmadığı doğrulanmalı



25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

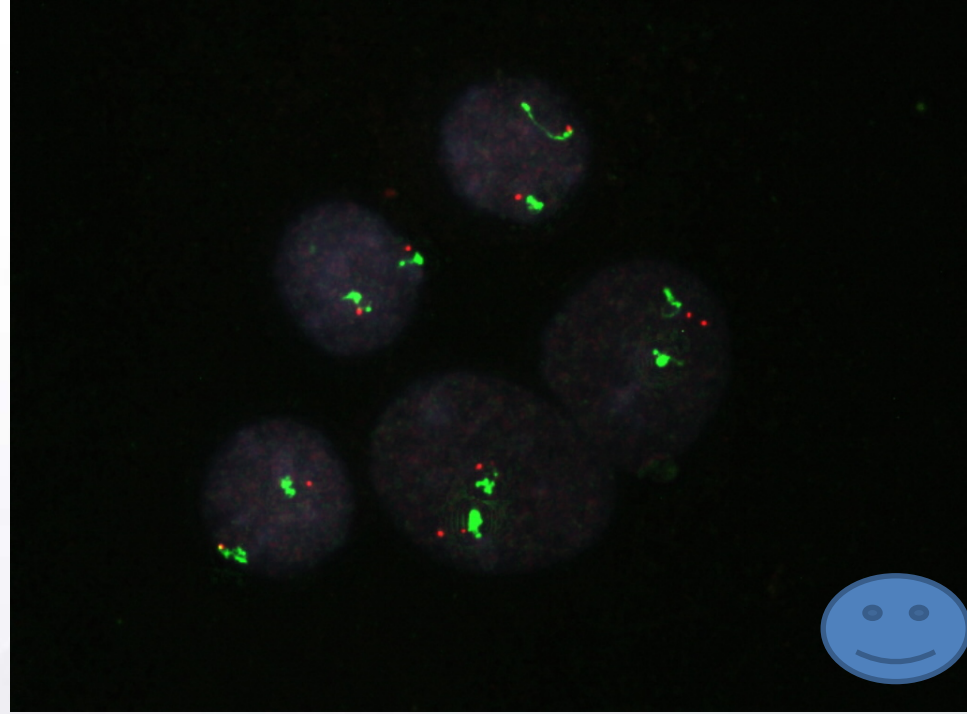
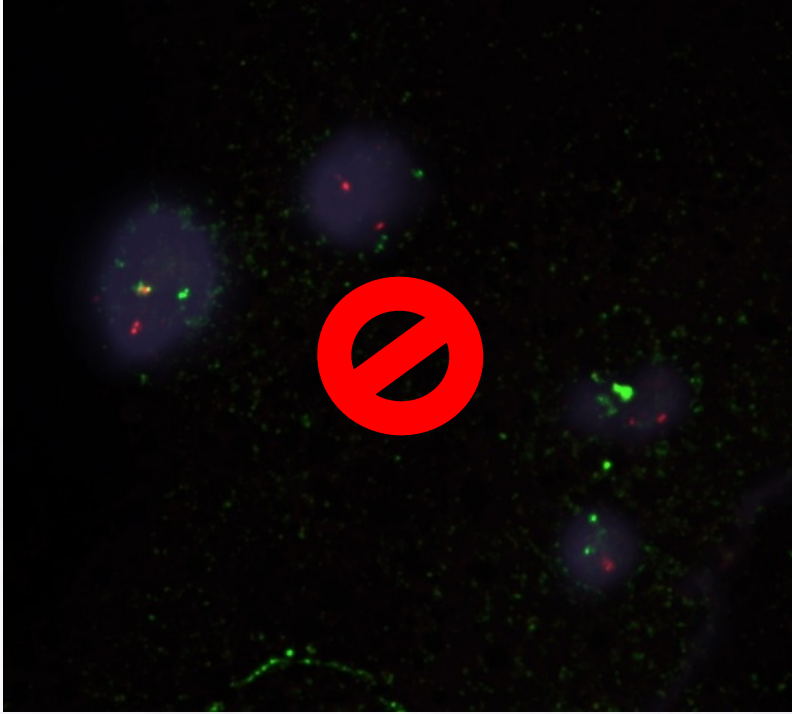
14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Arka planda kirli görünüm

- Yıkama prosedürü

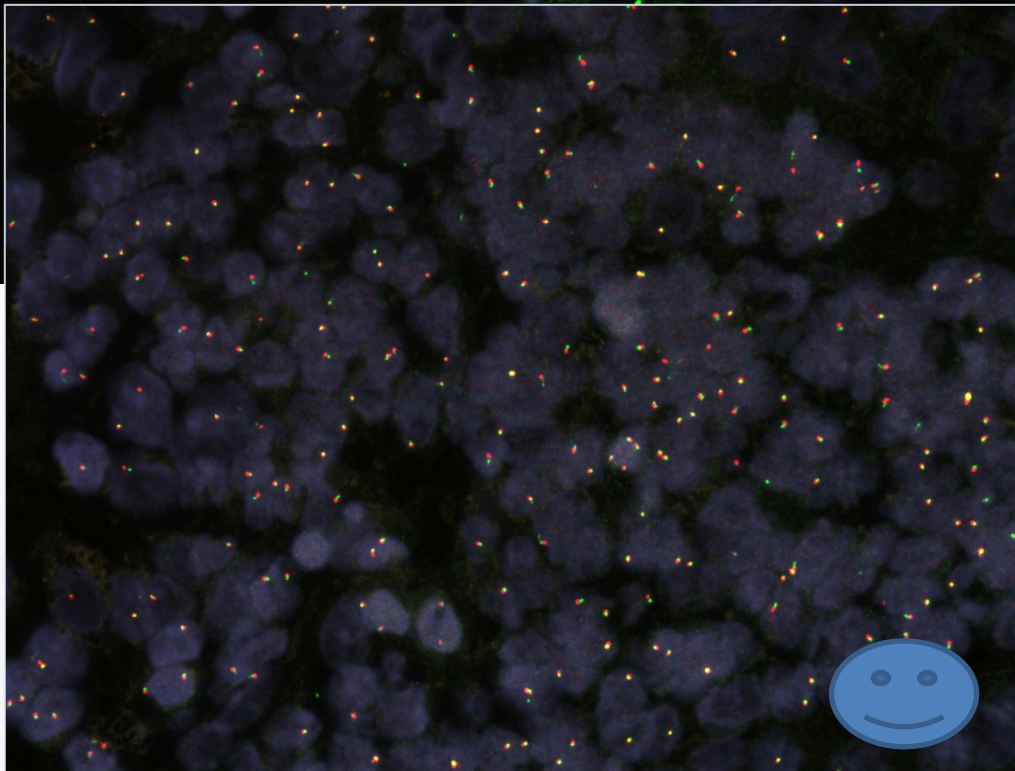
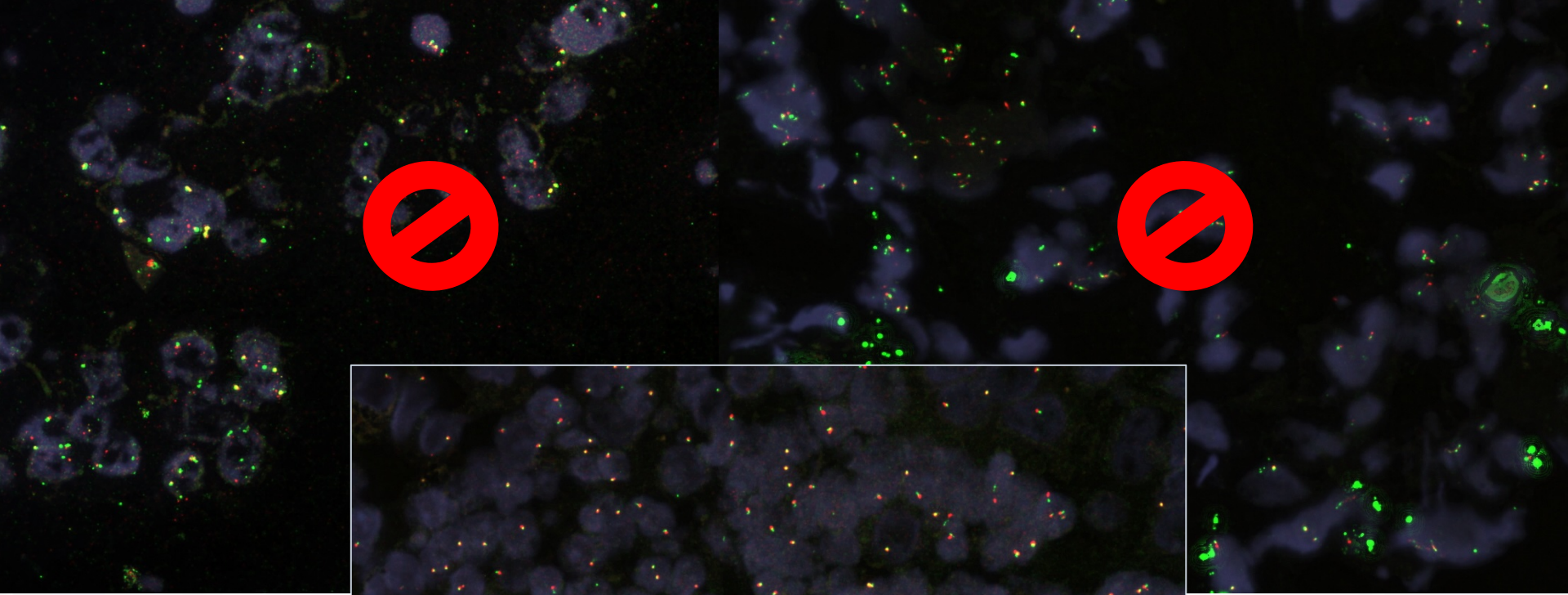
Yıkama sıcaklık ve süreleri doğrulanmalı. Gerekirse daha sert prosedür ile tekrar edilmelidir



25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA





25. Ulusal Patoloji Kongresi

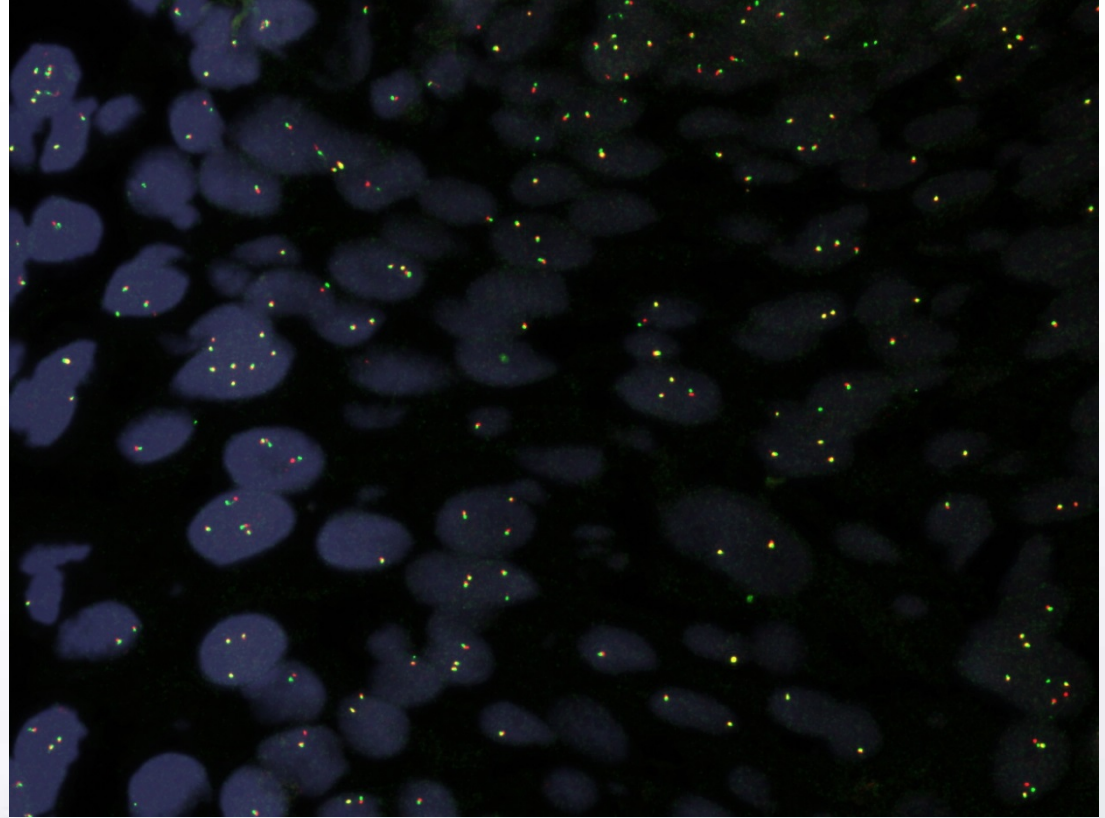
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Floresan filtrelerde deęişken görünüm

- Preparat arasında kir olmadığı doğrulanmalı
- Tüm tekrarlı solüsyonlar kontrol edilmeli



25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA



Dinlediđiniz için teŐekkürler



25. Ulusal Patoloji Kongresi
6. Sitopatoloji Kongresi

14 - 17 Ekim 2015 / Merinos AKKM - BURSA

