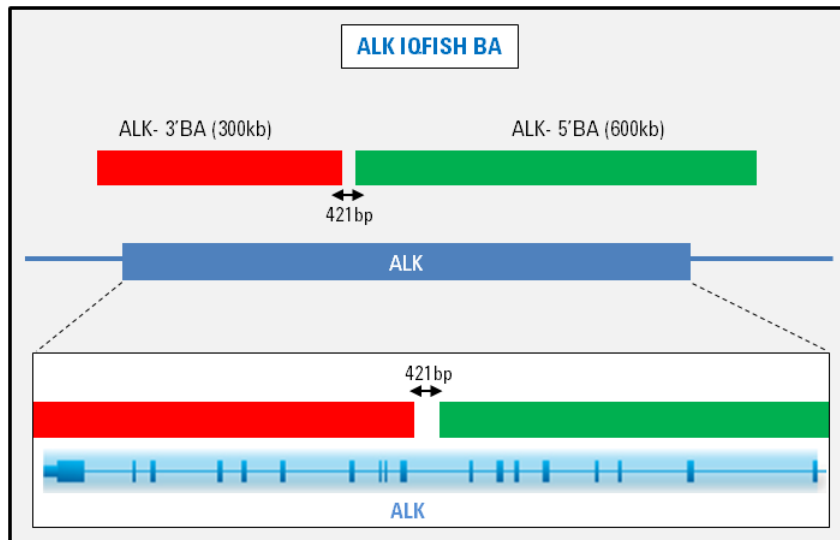


# ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis)

Part number / No de pièce / Artikel-Nr.  
G111800-2



English

**Intended Use** Agilent ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) is intended for the detection of rearrangements involving the ALK gene by fluorescence in situ hybridization (FISH). The dual-color probe for Dako Omnis is recommended to be used on formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) lung tissue specimens.

**Summary** Break apart probes consist of two child probes, designed to be on opposite sides of the translocation break point for a given gene, each labeled in a different color. These probes generate signals in normal cells that are closely matched in size and co-localized (2 fusion). Following a translocation, the signals are “broken apart” and no longer co-localize (for example: 1 red, 1 green, 1 fusion).

## Kit Components

Component	Part Number	Quantity	Storage
ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis)	G111800-85510	20 Tests	-25°C to -15°C

Keep ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) protected from light whenever possible. A certificate of analysis is shipped with the kit.



**Agilent Technologies**

- Warnings and Precautions**
- 1 For In Vitro Diagnostic Use.
  - 2 Avoid microbial contamination, which may cause erroneous results.
  - 3 All biological specimens and materials with which they come into contact should be handled as if capable of transmitting infection and disposed of with proper precautions in accordance with federal, state and local regulations. Refer to the appropriate blood borne pathogen precautions indicated by your facility or local regulations. Never pipet by mouth. Avoid specimen contact with skin and mucous membranes.
  - 4 Exercise standard precautions when obtaining, handling and disposing of potentially carcinogenic reagents.
  - 5 Exercise care to avoid cross-contamination of samples during all steps of this procedure, as this may lead to erroneous results.
  - 6 Use powder-free gloves whenever possible to minimize introduction of powder particles into sample or kit materials.
  - 7 The total onboard stability of ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) is 80 hours when stored in the Reagent Storage Module onboard the Dako Omnis instrument. Onboard time is tracked by the Dako Omnis software. When the Omnis run is finished, immediately transfer ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) to storage at -25°C to -15°C to preserve onboard stability time.
  - 8 The performance of ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) has been shown to be unaffected for up to 10 freeze-thaw cycles.
  - 9 The clinical interpretation of any test results should be evaluated within the context of the patient's medical history and other diagnostic laboratory test results by qualified personnel.
  - 10 Use of control slides is recommended.

**Use of Control Slides** It is recommended to run control slides concurrently with patient slides, using the same protocol, to monitor assay performance and to assess the accuracy of signal enumeration.

**Safety Information** A Material Safety Data Sheet(s) (MSDS) is available at [www.agilent.com](http://www.agilent.com).

**Indications of Instability or Deterioration** Inspect packages upon arrival. If the tamper-evident label is opened at the perforations, or if the vial contents are thawed upon arrival, do not use the contents of the package. For customer service or technical support, please contact Agilent Genomics.

**Materials Required but not Provided** The procedure described in this document uses the following additional materials. Consult the Instructions for Use for each device for further information.

- Dako Omnis advanced staining system platform; Dako Code GI100
- Dako Omnis Mixing Device; Dako Code GC116
- ISH Lid, for Dako Omnis; Dako Code GC102
- ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis); Dako Code GM300 (ready-to-use)
- ISH Pre-Treatment Solution (20×) (Dako Omnis); Dako Code GM301
- ISH Pepsin (Dako Omnis); Dako Code GM302 (ready-to-use)
- ISH Stringent Wash Buffer (20×) (Dako Omnis); Dako Code GM303
- Clarify (clearing agent); Dako Code GC810
- Wash Buffer (20×) (Dako Omnis); Dako Code GC807
- ISH Cleaning Solution (Dako Omnis); Dako Code GC207 (ready-to-use)
- Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis); Dako Code GM304 (ready-to-use, contains 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI))
- Glass coverslips for mounting (24 mm × 50 mm)

**Workflow Procedure** Use ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) for automated direct fluorescence in situ hybridization (FISH) assays onboard the Dako Omnis instrument with formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) lung tissue section specimens.

The automated FISH staining procedure on Dako Omnis includes deparaffinization of tissue sections, target retrieval, pepsin digestion, hybridization and stringent wash. The slides are unloaded in the dry unloading station. All protocol steps are pre-programmed in the Dako Omnis software.

Two protocols are available for processing on the Dako Omnis: *ALK IQFISH* and *ALK IQFISH (Extra Wash)*. The *ALK IQFISH* protocol provides a slightly faster run-time and allows for the processing of HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) slides in the same Dako Omnis Slide Rack. Using the *ALK IQFISH (Extra Wash)* protocol may result in lower background on challenging samples. Note that the two protocols cannot be run in the same Slide Rack. The automated staining protocol steps can be viewed using the Dako Link Omnis Workstation and are summarized in [Table 1](#).

**Table 1** Simplified overview of the automated staining protocols for ALK IQFISH performed onboard Dako Omnis

Step	Reagent	Time and Temperature
Dewaxing	Clearify (clearing agent)	10 minutes, 38°C
Target retrieval	ISH Pre-Treatment Solution (Dako Omnis)	15 minutes, 97°C
Wash	ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis)	2 × 3 minutes, 32°C
Digestion	ISH Pepsin (Dako Omnis)	30 minutes
Drying	—	15 minutes, 45°C
Denaturation	—	10 minutes, 66°C
Hybridization	ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis)	75 minutes, 45°C
Stringent wash	ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis)	10 minutes, 61°C
Cool down wash	<b>ALK IQFISH protocol:</b> ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis)	Brief rinse, 1 cycle
	<b>ALK IQFISH (Extra Wash) protocol:</b> Wash Buffer (Dako Omnis)	Brief rinse, 2 cycles

[Table 2](#) describes the procedures for using ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) with the automated Dako Omnis staining protocols. Consult the Dako Omnis User Guides for instructions on loading slides, ISH Lid, and reagents.

**Table 2** Procedures

Histology Reagent Preparation Procedures
<p><b>1 Prepare ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis).</b> The provided vial contains a gold-coated metal ball used for mixing. Prior to loading the vial onto Dako Omnis, the reagent must be thawed and thoroughly mixed as it phase-separates during freezing.</p> <p>Use the Dako Omnis Mixing Device for probe mixing as described below. Consult the Mixing Device User Guide for further details. Always mix the vial contents of ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) just prior to loading onto the instrument. Do not shake the vial.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Remove the ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) vial from the freezer and load onto the Dako Omnis Mixing Device.</li> <li>Connect the Mixing Device and ensure the green status light is on. Select the program <i>Thaw + Mix</i> to begin mixing the vial contents.</li> <li>After completing the <i>Thaw + Mix</i> program, remove the probe vial from the Mixing Device.</li> <li>Once thawed and mixed, maintain the vial in the upright position to prevent probe solution from collecting in the vial cap.</li> <li>Open the flip top cap, flick it backward and click it into the cut-out position (consult the Dako Omnis Basic User Guide for details).</li> <li>Immediately load the vial into the Reagent Storage Module on the Dako Omnis instrument. If the continuous reagent loading feature is used during the staining run, ensure that the time from mixing to aspiration of the vial at Dako Omnis is at least 10 minutes.</li> <li>After the run is complete, immediately transfer ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) to storage at –25°C to –15°C.</li> </ul> <p><b>NOTE:</b> If the vial is being used immediately after receipt on dry ice, thaw the vial prior to loading onto the Mixing Device, then use the program <i>Mix only</i> to mix the vial contents (do not use the <i>Thaw + Mix</i> program).</p>

**Table 2** Procedures

---

**2 Prepare ISH Pre-Treatment Solution.** Prepare a working solution by diluting the ISH Pre-Treatment Solution (20×) (Dako Omnis) 1:20 as follows:

- Fill a Dako Omnis 3.5 L bulk bottle, marked PTB (blue label, Code GC109), to the fill line with deionized water (3.325 L). Ensure the bulk bottle is placed on a horizontal surface before filling.
- Empty one 175 mL ISH Pre-Treatment Solution (20×) (Dako Omnis) concentrate bottle into the bulk bottle. The concentrate contains an antimicrobial agent and an inert green color for easy identification.
- Transfer the detachable label from the concentrate bottle to the bulk bottle. Fasten the bulk bottle lid and gently invert the bulk bottle 2 to 3 times.
- Use the handheld Dako Omnis barcode scanner to identify the reagent (scan the detachable label and the bulk bottle).
- Immediately load the Bulk bottle onto the Dako Omnis instrument.

The diluted solution can be used within 7 days when stored onboard Dako Omnis. Onboard time is tracked by the Dako Omnis software. Unused diluted solution may be stored at 2–8°C for 30 days. After cold storage ensure that the diluted solution is equilibrated to at least 18°C before loading onto Dako Omnis.

**NOTE:** Discard diluted solution if cloudy in appearance.

---

**3 Prepare ISH Stringent Wash Buffer.** Prepare a working solution by diluting the ISH Stringent Wash Buffer (20×) (Dako Omnis) 1:20 as follows:

- Fill a Dako Omnis 3.5 L bulk bottle, marked PTB (blue label, Code GC109), to the fill line with deionized water (3.325 L). Ensure the bulk bottle is placed on a horizontal surface before filling.
- Empty one 175 mL ISH Stringent Wash Buffer (20×) (Dako Omnis) concentrate bottle into the bulk bottle. The concentrate contains an antimicrobial agent, a detergent, and an inert yellow color for easy identification.
- Transfer the detachable label from the concentrate bottle to the bulk bottle. Fasten the bulk bottle lid and gently invert the bulk bottle 2 to 3 times.
- Use the handheld Dako Omnis barcode scanner to identify the reagent (scan the detachable label and the bulk bottle).
- Immediately load the Bulk bottle onto the Dako Omnis instrument.

The diluted solution can be used within 7 days when stored onboard Dako Omnis. Onboard time is tracked by the Dako Omnis software. Unused diluted solution may be stored at 2–8°C for 30 days. After cold storage ensure that the diluted solution is equilibrated to at least 18°C before loading onto Dako Omnis.

**NOTE:** Discard diluted solution if cloudy in appearance.

---

**4 Load ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis).** ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) is a ready-to-use reagent. Before loading onto Dako Omnis, open the vial's flip top cap, flick it backward and click it into the cut-out.

The total onboard stability of ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) is **80 hours** when stored in the Reagent Storage Module on Dako Omnis. Onboard time is tracked by the Dako Omnis software. After the run is complete, ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) can be transferred to storage temperature (2–8°C) to preserve onboard stability time.

---

**5 Load ISH Pepsin (Dako Omnis).** ISH Pepsin (Dako Omnis) is a ready-to-use reagent. Before loading onto Dako Omnis, ensure the reagent is thawed, then open the vial's flip top cap, flick it backward and click it into the cut-out.

The total onboard stability of ISH Pepsin (Dako Omnis) is **80 hours** when stored in the Reagent Storage Module on Dako Omnis. Onboard time is tracked by the Dako Omnis software. After the run is complete, ISH Pepsin (Dako Omnis) can be transferred to storage temperature (–18°C to 8°C) to preserve onboard stability time.

---

**6 Load additional Dako Omnis accessories.** Load the accessories listed below onboard Dako Omnis as specified in the Dako Omnis User Guide:

- Deionized water
  - Working solution of Wash Buffer, diluted from Wash Buffer (20×) (Dako Omnis), Code GC807
  - Clarify (clearing agent), Code GC810
  - ISH Cleaning Solution (Dako Omnis), Code GC207
  - ISH Lid, Code GC102
-

**Table 2** Procedures

<b>Pre-Staining Procedures</b>	
<b>1</b>	In the Dako Link Omnis Workstation software, choose a protocol to be applied to each slide. Under IQFISH protocols, select either <i>ALK IQFISH</i> or <i>ALK IQFISH (Extra Wash)</i> .
<b>2</b>	Print slide labels and attach them to the glass slides.
<b>3</b>	Place the slides in the Slide Rack. Consult the Dako Omnis Basic User Guide for details. A Slide Rack can hold from one to five slides. It is recommended that at least two slides are stained in a ALK IQFISH staining run.
<b>4</b>	Load the Slide Rack onto Dako Omnis.
<b>5</b>	Load ISH Lid(s) onto Dako Omnis (one ISH Lid per Slide Rack).
<b>6</b>	Verify that bulk bottles with fluids are onboard and registered by the Dako Omnis instrument. The required bulk fluids include: Clarify (clearing agent), diluted ISH Pre-Treatment Solution (Dako Omnis), diluted ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis) and diluted Wash Buffer (Dako Omnis). Preparation of these solutions is described in <a href="#">Histology Reagent Preparation Procedures</a> , above.
<b>7</b>	Verify that the Reagent Storage Module has been loaded with vials containing ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis), ISH Pepsin (Dako Omnis), and the freshly mixed ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis). Verify that all flip top vial caps are open. Preparation of these solutions is described in <a href="#">Histology Reagent Preparation Procedures</a> , above.
<b>8</b>	To start the run using the selected staining protocol, follow the instructions on the Dako Omnis touchscreen and tap <i>Done</i> to initiate the staining procedure. You can monitor the progress of the staining protocol on the Dako Link Omnis Workstation. When the run is complete, if no further ISH staining runs are imminent, transfer all reagents to the recommended storage temperatures.
<b>Post-Staining Procedures</b>	
<b>1</b>	When the staining protocol is complete, remove the slides from the Dry Unloading Station of the Dako Omnis.
<b>2</b>	Obtain Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis), containing DAPI, from cold storage for use off-board the Dako Omnis instrument.
<b>3</b>	Apply up to 30 $\mu$ L of Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) to the target area of the slide and add a glass coverslip. The tissue section must be completely covered by mounting medium. Transfer the Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) to storage temperature (2–8°C) immediately after use.
<b>4</b>	View the slides under a fluorescence microscope with Cy3/FITC or orange/green dual filter. Slides may be read after 15 minutes or within 7 days after mounting.
<b>5</b>	Store slides in the dark at –18°C to 8°C to minimize fading.

**Limitations of the Procedure**

Proper storage and handling of reagents and samples are essential for the performance. All laboratory equipment used to prepare the target during this procedure should be calibrated and maintained to ensure accuracy. Incorrect measurement of reagents may affect the outcome of the procedure.



**Utilisation prévue** La sonde Agilent ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) sert à la détection des réarrangements impliquant le gène ALK par l'hybridation in situ en fluorescence (FISH). Il est conseillé d'utiliser la sonde bicolore de Dako Omnis sur des échantillons de tissu pulmonaire fixés au formol et inclus en paraffine.

**Résumé** Les sondes de séparation consistent en deux sondes filles, conçues pour être situées sur les côtés opposés du point de cassure de translocation pour un gène donné, chacune marquée d'une couleur différente. Ces sondes génèrent des signaux dans des cellules normales qui sont de taille semblable et colocalisés (2 fusions). Après une translocation, les signaux sont « séparés » et ne sont plus colocalisés (par exemple : 1 rouge, 1 vert, 1 fusion).

#### Composants du kit

Composant	No de pièce	Quantité	Conservation
ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis)	G111800-85510	20 tests	-25 °C à -15 °C

Dans la mesure du possible, veiller à protéger la sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) de toute source lumineuse. Un certificat d'analyse est expédié avec le kit.

#### Avertissements et Précautions

- 1 Pour une utilisation diagnostique in vitro.
- 2 Éviter toute contamination microbienne, cela pourrait entraîner des résultats erronés.
- 3 Tous les échantillons biologiques et les matériels en contact avec ceux-ci doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre une infection et jetés en prenant les précautions appropriées, conformément aux règlements locaux, régionaux et nationaux. Consulter les précautions adéquates à prendre contre les agents pathogènes transmissibles par le sang, indiquées par votre établissement ou la réglementation locale. Ne jamais pipeter à la bouche. Éviter tout contact des échantillons avec la peau et les muqueuses.
- 4 Prendre les précautions types lors de l'obtention, la manipulation et l'élimination de réactifs potentiellement cancérogènes.
- 5 Prendre des précautions à toutes les étapes de cette procédure pour éviter une contamination croisée entre les échantillons, car cela pourrait produire des résultats erronés.
- 6 Si possible, utiliser des gants non poudrés pour minimiser l'introduction de particules de poudre dans l'échantillon ou les matériaux du kit.
- 7 La stabilité totale sur l'instrument de la sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) est de 80 heures lorsque la solution est conservée dans le Reagent Storage Module (Module de conservation des réactifs) sur l'instrument Dako Omnis. La durée sur l'instrument est suivie par le logiciel Dako Omnis. Lorsque le cycle Omnis est terminé, amener immédiatement la sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) à une température de stockage entre -25 °C et -15 °C, afin de préserver la durée de stabilité sur l'instrument.
- 8 Il a été démontré que la performance de la sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) n'était pas altérée après jusqu'à 10 cycles de congélation-décongélation.
- 9 L'interprétation clinique des résultats de tests doit être évaluée par du personnel qualifié en tenant compte des antécédents médicaux du patient et des autres résultats de tests diagnostiques de laboratoire.
- 10 L'utilisation de lames de contrôle est recommandée.

#### Utilisation de lames de contrôle

Il est recommandé d'analyser des lames de contrôle parallèlement aux lames du patient, en utilisant le même protocole, pour contrôler les performances du dosage et évaluer la précision du nombre de signaux.

#### Informations sur la sécurité

Une fiche technique de sécurité (MSDS) est disponible sur [www.agilent.com](http://www.agilent.com).

#### Indications d'instabilité ou de détérioration

Inspecter l'emballage à l'arrivée. Si l'étiquette de garantie d'inviolabilité est ouverte au niveau des perforations, ou si le contenu du flacon était décongelé à son arrivée, ne pas utiliser le contenu de l'emballage. Pour joindre le service clientèle ou l'assistance technique, contacter Agilent Genomics.

**Matériels requis  
mais non fournis**

La procédure décrite dans le présent document utilise les matériaux supplémentaires suivants. Consulter les instructions d'utilisation de chaque dispositif pour de plus amples informations.

- Dako Omnis ; réf. Dako G1100
- Dako Omnis Mixing Device ; réf. Dako GC116
- ISH Lid, pour Dako Omnis ; réf. Dako GC102
- ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) ; réf. Dako GM300 (prête à l'emploi)
- ISH Pre-Treatment Solution (20×) (Dako Omnis) ; réf. Dako GM301
- ISH Pepsin (Dako Omnis) ; réf. Dako GM302 (prête à l'emploi)
- ISH Stringent Wash Buffer (20×) (Dako Omnis) ; réf. Dako GM303
- Clearify (agent d'élimination) ; réf. Dako GC810
- Wash Buffer (20×) (Dako Omnis) ; réf. Dako GC807
- ISH Cleaning Solution (Dako Omnis) ; réf. Dako GC207 (prête à l'emploi)
- Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) ; réf. Dako GM304 (prêt à l'emploi, contenant du 4',6-diamidino-2-phénylindole (DAPI))
- Lamelles de protection pour le montage (24 mm x 50 mm)

**Procédure relative  
au flux de travail**

Utiliser la sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) pour effectuer sur l'instrument Dako Omnis des tests automatisés d'hybridation in situ en fluorescence directe (FISH) sur des échantillons de tissu pulmonaire fixés au formol et inclus en paraffine.

La procédure de coloration FISH automatisée sur l'instrument Dako Omnis inclut le déparaffinage des coupes de tissus, le démasquage des cibles, la digestion par la pepsine, l'hybridation et le lavage stringent. Les lames sont déchargées dans la Dry Unloading Station (Station de déchargement à sec). Toutes les étapes du protocole sont pré-programmées dans le logiciel Dako Omnis.

Deux protocoles sont disponibles pour les procédures effectuées sur l'instrument Dako Omnis : *ALK IQFISH* et *ALK IQFISH (Extra Wash)*. Le protocole *ALK IQFISH* fournit une exécution un peu plus rapide et permet le traitement des lames HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) dans le même portoir de lames Dako Omnis. L'utilisation du protocole *ALK IQFISH (Extra Wash)* peut générer moins de coloration de fond sur les échantillons complexes. À noter : les deux protocoles ne peuvent être exécutés sur le même portoir de lames. Les étapes du protocole de coloration automatisé peuvent être affichées sur la Dako Link Omnis Workstation et sont résumées dans le [Tableau 1](#).

**Tableau 1** Aperçu simplifié des protocoles de coloration automatiques pour ALK IQFISH exécutés sur l'instrument Dako Omnis

Étape	Réactif	Durée et température
Déparaffinage	Clearify (agent d'élimination)	10 minutes, à 38 °C
Démasquage des cibles	ISH Pre-Treatment Solution (Dako Omnis)	15 minutes, à 97 °C
Lavage	ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis)	2 × 3 minutes, à 32 °C
Digestion	ISH Pepsin (Dako Omnis)	30 minutes
Séchage	—	15 minutes, à 45 °C
Dénaturation	—	10 minutes, à 66 °C
Hybridation	ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis)	75 minutes, à 45 °C
Lavage stringent	ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis)	10 minutes, à 61 °C
Lavage de refroidissement	<b>Protocole ALK IQFISH</b> : ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis)	Rinçage bref, 1 cycle
	<b>Protocole ALK IQFISH (Extra Wash)</b> : Wash Buffer (Dako Omnis)	Rinçage bref, 2 cycles

Le [Tableau 2](#) décrit les procédures d'utilisation de la sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) avec les protocoles de coloration automatisés Dako Omnis. Consulter les Guides d'utilisation de l'instrument Dako Omnis pour obtenir des instructions sur le chargement des lames, le couvercle ISH Lid et les réactifs.

**Tableau 2** Procédures

### Procédures de préparation de réactif histologique

**1 Préparer la sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis).** Le flacon fourni contient une bille de métal plaqué or qui sert au mélange. Avant de charger le flacon sur l'instrument Dako Omnis, le réactif doit être décongelé et soigneusement mélangé car ses phases se séparent lors de la congélation.

Utiliser le dispositif de mélange Dako Omnis Mixing Device pour mélanger le contenu de la sonde, en suivant la description ci-dessous. Consulter le Guide d'utilisation du dispositif de mélange pour plus d'informations. Veiller à toujours mélanger le contenu du flacon de sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) juste avant de la charger sur l'instrument. Ne pas secouer le flacon.

- Retirer le flacon de sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) du congélateur et le placer sur le dispositif de mélange Dako Omnis Mixing Device.
- Brancher le dispositif de mélange et s'assurer que le voyant d'état vert est allumé. Sélectionner le programme *Thaw + Mix (Décongélation + Mélange)* pour démarrer le mélange du contenu du flacon.
- Après la phase de *Thaw + Mix (Décongélation + Mélange)*, retirer le flacon du dispositif de mélange.
- Une fois décongelé et mélangé, maintenir le flacon en position verticale afin d'éviter que la solution de sonde ne se dépose sur le capuchon du flacon.
- Ouvrir le bouchon à charnière, le pousser vers l'arrière et l'enclencher dans l'encoche (consulter le Guide d'utilisation de base de l'instrument Dako Omnis).
- Charger immédiatement le flacon sur le Reagent Storage Module (Module de conservation des réactifs) de l'instrument Dako Omnis. Si la fonction de chargement du réactif en continu est utilisée au cours du cycle de coloration, s'assurer que le temps entre le mélange et l'aspiration du flacon sur l'instrument Dako Omnis est d'au moins 10 minutes.
- Après la fin du cycle, amener immédiatement la sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) à une température de stockage comprise entre  $-25\text{ °C}$  et  $-15\text{ °C}$ .

**REMARQUE :** Si le flacon est utilisé immédiatement après sa réception dans de la neige carbonique, décongeler le flacon avant de le placer sur le dispositif de mélange Mixing Device, puis utiliser le programme *Mix only (Mélange uniquement)* pour mélanger le contenu du flacon (ne pas utiliser le programme *Thaw + Mix (Décongélation + Mélange)*).

**2 Préparer ISH Pre-Treatment Solution.** Préparer une solution de travail en diluant au 1/20e la ISH Pre-Treatment Solution (20x) (Dako Omnis) comme suit :

- Remplir une bouteille à gros volume Dako Omnis de 3,5 L, désignée par une étiquette bleue (tampon PT, réf. GC109), jusqu'à la ligne de remplissage avec de l'eau déionisée (3,325 L). Veiller à bien placer la bouteille à gros volume sur une surface horizontale avant le remplissage.
- Vider un flacon de 175 mL de concentré de la ISH Pre-Treatment Solution (20x) (Dako Omnis) dans la bouteille à gros volume. Ce concentré contient un agent antimicrobien et une teinte verte inerte pour en faciliter l'identification.
- Transférer l'étiquette détachable depuis le flacon de concentré sur la bouteille à gros volume. Fermer le couvercle de la bouteille à gros volume et la retourner délicatement deux à trois fois.
- Utiliser le lecteur portatif de code à barres Dako Omnis pour identifier le réactif (scanner l'étiquette détachable et la bouteille à gros volume).
- Charger immédiatement la bouteille à gros volume sur l'instrument Dako Omnis.

Une fois chargée et stockée sur l'instrument Dako Omnis, la solution diluée peut être utilisée pendant sept jours. La durée sur l'instrument est suivie par le logiciel Dako Omnis. La solution diluée inutilisée peut être conservée entre 2 et 8 °C pendant 30 jours. Après sortie du réfrigérateur, s'assurer que la solution diluée est équilibrée à au moins 18 °C avant le chargement sur l'instrument Dako Omnis.

**REMARQUE :** Jeter la solution diluée si elle semble trouble.



**Tableau 2** Procédures

**3 Préparer ISH Stringent Wash Buffer.** Préparer une solution de travail en diluant au 1/20ème le tampon de lavage ISH Stringent Wash Buffer (20x) (Dako Omnis) comme suit :

- Remplir une bouteille à gros volume Dako Omnis de 3,5 L, désignée par une étiquette bleue (tampon PT, réf. GC109), jusqu'à la ligne de remplissage avec de l'eau déionisée (3,325 L). Veiller à bien placer la bouteille à gros volume sur une surface horizontale avant le remplissage.
- Vider un flacon de 175 mL de concentré de tampon de lavage ISH Stringent Wash Buffer (20x) (Dako Omnis) dans la bouteille à gros volume. Ce concentré contient un agent antimicrobien, un détergent et une teinte jaune inerte pour en faciliter l'identification.
- Transférer l'étiquette détachable depuis le flacon de concentré sur la bouteille à gros volume. Fermer le couvercle de la bouteille à gros volume et la retourner délicatement deux à trois fois.
- Utiliser le lecteur portatif de code à barres Dako Omnis pour identifier le réactif (scanner l'étiquette détachable et la bouteille à gros volume).
- Charger immédiatement la bouteille à gros volume sur l'instrument Dako Omnis.

Une fois chargée et stockée sur l'instrument Dako Omnis, la solution diluée peut être utilisée pendant sept jours. La durée sur l'instrument est suivie par le logiciel Dako Omnis. La solution diluée inutilisée peut être conservée entre 2 et 8 °C pendant 30 jours. Après sortie du réfrigérateur, s'assurer que la solution diluée est équilibrée à au moins 18 °C avant le chargement sur l'instrument Dako Omnis.

**REMARQUE :** Jeter la solution diluée si elle semble trouble.

**4 Charger ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis).** La solution ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) est un réactif prêt à l'emploi. Avant le chargement sur l'instrument Dako Omnis, ouvrir le bouchon à charnière du flacon, le pousser vers l'arrière et l'enclencher dans l'encoche.

La stabilité totale de la solution ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) sur l'instrument est de **80 heures** lorsqu'elle est conservée dans le Reagent Storage Module (Module de conservation des réactifs) de l'instrument Dako Omnis. La durée sur l'instrument est suivie par le logiciel Dako Omnis. Une fois le cycle terminé, la solution ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) peut être amenée à une température de stockage (entre 2 et 8 °C) afin de préserver la durée de stabilité sur l'instrument.

**5 Charger ISH Pepsin (Dako Omnis).** La solution ISH Pepsin (Dako Omnis) est un réactif prêt à l'emploi. Avant le chargement sur l'instrument Dako Omnis, s'assurer que le réactif est décongelé et ouvrir le bouchon à charnière du flacon, le pousser vers l'arrière et l'enclencher dans l'encoche.

La stabilité totale de la solution ISH Pepsin (Dako Omnis) sur l'instrument est de **80 heures** lorsqu'elle est conservée dans le Reagent Storage Module (Module de conservation des réactifs) de l'instrument Dako Omnis. La durée sur l'instrument est suivie par le logiciel Dako Omnis. Une fois le cycle terminé, la solution ISH Pepsin (Dako Omnis) peut être amenée à une température de stockage (entre -18 et 8 °C) afin de préserver la durée de stabilité sur l'instrument.

**6 Charger des accessoires Dako Omnis supplémentaires.** Charger les accessoires indiqués ci-dessous sur l'instrument Dako Omnis, en suivant les instructions spécifiées dans le Guide d'utilisation du Dako Omnis :

- Eau déionisée
- Solution de travail du Wash Buffer, diluée à partir du Wash Buffer (20x) (Dako Omnis), réf. GC807
- Clearify (agent d'élimination), réf. GC810
- Solution de nettoyage ISH Cleaning Solution (Dako Omnis), réf. GC207
- Couvercle ISH Lid, réf. GC102

#### Procédures de pré-coloration

**1** Choisir le protocole à appliquer pour chaque lame à partir du logiciel de la Dako Link Omnis Workstation. Sous IQFISH protocols (protocoles), sélectionner *ALK IQFISH* ou *ALK IQFISH (Extra Wash)*.

**2** Imprimer les étiquettes des lames et les apposer sur les lames de verre.

**3** Placer les lames dans le portoir à lames. Consulter le Guide d'utilisation de base de l'instrument Dako Omnis pour plus d'informations. Un portoir à lames peut contenir une à cinq lames. Il est recommandé de colorer au moins deux lames lors d'un cycle de coloration ALK IQFISH.

**4** Charger le portoir à lames sur l'instrument Dako Omnis.

**5** Charger le couvercle ISH Lid (un couvercle par portoir à lames) sur l'instrument Dako Omnis.

**Tableau 2** Procédures

- 6 Vérifier que les bouteilles à gros volume de liquide sont chargées et enregistrées par l'instrument Dako Omnis. Les liquides à gros volume requis incluent : Clearify (agent d'élimination), solution diluée ISH Pre-Treatment Solution (Dako Omnis), solution diluée ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis) et tampon de lavage dilué Wash Buffer (Dako Omnis). La préparation de ces solutions est décrite dans la rubrique [Procédures de préparation de réactif histologique](#), ci-dessus.
- 7 Vérifier que le Reagent Storage Module (Module de conservation des réactifs) a été chargé de flacons contenant la solution ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis), la solution ISH Pepsin (Dako Omnis) et la sonde ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) qui vient d'être mélangée. Vérifier que tous les bouchons à charnière sont ouverts. La préparation de ces solutions est décrite dans la rubrique [Procédures de préparation de réactif histologique](#), ci-dessus.
- 8 Pour lancer le cycle en utilisant le protocole de coloration choisi, suivre les instructions qui apparaissent sur l'écran tactile et appuyer sur « Done » (Terminé) pour lancer la procédure de coloration. Vous pouvez contrôler la progression du protocole de coloration sur la Dako Link Omnis Workstation. Lorsque le cycle est terminé, si aucune autre coloration ISH n'est prévue dans l'immédiat, rétablir la température de conservation recommandée pour tous les réactifs.

**Procédures de post-coloration**

- 1 Lorsque le protocole de coloration est terminé, retirer les lames de la Dry Unloading Station (Station de déchargement à sec) de l'instrument Dako Omnis.
- 2 Retirer le milieu de montage Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) contenant du DAPI de son lieu de stockage froid, et l'utiliser hors de l'instrument Dako Omnis.
- 3 Appliquer jusqu'à 30 µl de milieu Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) sur la zone cible de la lame et placer une lamelle de protection en verre. La coupe de tissu doit être entièrement recouverte de milieu de montage. Amener le milieu Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) à température de conservation (entre 2 et 8 °C) immédiatement après utilisation.
- 4 Examiner les lames sous un microscope à fluorescence en utilisant du Cy3/FITC ou un double filtre orange/vert. Les lames peuvent être analysées 15 minutes après le montage ou dans les 7 jours suivant le montage.
- 5 Pour minimiser la décoloration, conserver les lames à l'abri de la lumière entre -18 et 8 °C.

**Limites de la procédure**

De bonnes pratiques de conservation et de manipulation des réactifs et des échantillons sont essentielles pour garantir leur performance. Tous les équipements de laboratoire utilisés pour préparer la cible au cours de cette procédure doivent être calibrés et entretenus pour assurer leur précision. Une mesure incorrecte des réactifs peut altérer le résultat de la procédure.

Deutsch

**Verwendungszweck**

Die Agilent ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) dient dem Nachweis von Umlagerungen des ALK-Gens durch Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH). Die Dual-Color Sonde für Dako Omnis ist für die Verwendung an formalinfixierten, paraffineingebetteten (FFPE) Lungen-Gewebeschnitten vorgesehen.

**Zusammenfassung**

Aufbrechsonden bestehen aus zwei untergeordneten Sonden, die auf gegenüberliegenden Seiten der Translokationsbruchstelle eines bestimmten Gens eingesetzt werden und jeweils mit einer unterschiedlichen Farbe gekennzeichnet sind. Diese Sonden generieren Signale in normalen Zellen, die von ähnlicher Größe und kolokalisiert sind (2x Fusion). Infolge einer Translokation werden die Signale „aufgebrochen“ und sind nicht mehr kolokalisiert (z. B. 1 x rot, 1 x grün, 1 x Fusion).

**Kit-Komponenten**

Komponente	Artikel-Nr.	Anzahl	Lagerung
ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis)	G111800-85510	20 Tests	-25 °C bis -15 °C

Die ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) nach Möglichkeit immer vor Licht schützen. Ein Analysezertifikat wird mit dem Kit geliefert.

#### **Warnhinweise und Vorsichtsmaß- nahmen**

- 1** Zur In-vitro-Diagnostik.
- 2** Mikrobielle Verunreinigung vermeiden, da diese zu inkorrekten Ergebnissen führen kann.
- 3** Mit allen biologischen Proben und allen Materialien, die damit in Berührung kommen, ist so umzugehen, als könnten sie Krankheiten übertragen. Bei der Entsorgung sind angemessene Vorsichtsmaßnahmen sowie kommunale, einzel- bzw. bundesstaatliche Richtlinien zu beachten. Es sind die jeweiligen Vorsichtsmaßnahmen für durch Blut übertragene Krankheitserreger zu beachten, die durch Ihre Einrichtung oder staatliche Richtlinien vorgegeben sind. Niemals mit dem Mund pipettieren. Haut- und Schleimhautkontakt mit Proben vermeiden.
- 4** Bei der Empfangnahme, der Handhabung und der Entsorgung von potenziell krebserregenden Reagenzien sind die Standard-Vorsichtsmaßnahmen anzuwenden.
- 5** Bei allen Schritten dieses Vorgangs vorsichtig vorgehen, um eine Kreuzkontamination der Proben zu vermeiden, da dies zu inkorrekten Ergebnissen führen kann.
- 6** Nach Möglichkeit immer puderfreie Handschuhe verwenden, damit keine Puderpartikel in die Proben- oder Kit-Materialien gelangen.
- 7** Die Stabilität der ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) beträgt im Gerät insgesamt 80 Stunden bei Aufbewahrung im Reagenzienvorratsmodul des Dako Omnis. Die Zeitdauer im Gerät wird durch die Dako Omnis Software erfasst. Wenn der Durchlauf komplett ist, sollte die ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) sofort bei  $-25\text{ °C}$  bis  $-15\text{ °C}$  gelagert werden.
- 8** Die Leistung der ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) wird nachweislich über bis zu 10 Einfrier-/Auftau-Vorgänge nicht beeinträchtigt.
- 9** Die klinische Auswertung aller Testergebnisse sollte von qualifiziertem Personal unter Berücksichtigung der Krankengeschichte des Patienten und anderer Diagnostik-Labortests vorgenommen werden.
- 10** Die Verwendung von Kontrollobjektträgern wird empfohlen.

#### **Verwendung von Kontrollobjekt- trägern**

Es wird empfohlen, Kontrollobjektträger und Patientenobjektträger gleichzeitig zu untersuchen, um die Leistung der Probe zu beobachten und die Genauigkeit der Auszählung der Signale zu bewerten.

#### **Sicherheits- informationen**

Ein Material-Sicherheitsdatenblatt (Material Safety Data Sheet, MSDS) ist unter [www.agilent.com](http://www.agilent.com) abrufbar.

#### **Hinweise auf Instabilität oder Produktzerfall**

Verpackung beim Eingang überprüfen. Wenn das Verschluss-Sicherungsetikett an den Perforierungen geöffnet ist, oder wenn die Fläschchen-Inhalte vor Ankunft getaut sind, den Packungsinhalt nicht verwenden. Für Kundendienst und technischen Support ist Agilent Genomics zu kontaktieren.

#### **Benötigtes und nicht mitgeliefertes Material**

Die in diesem Dokument beschriebenen Verfahren verwenden das folgende Zusatzmaterial. Bitte die Gebrauchsanweisung für jedes Produkt für weitere Einzelheiten beachten.

- Dako Omnis (erweiterte Färbesystemplattform); Dako Code-Nr. GI100
- Dako Omnis Mixing Device; Dako Code-Nr. GC116
- ISH Lid, for Dako Omnis; Dako Code-Nr. GC102
- ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis); Dako Code-Nr. GM300 (gebrauchsfertig)
- ISH Pre-Treatment Solution (20×) (Dako Omnis); Dako Code-Nr. GM301
- ISH Pepsin (Dako Omnis); Dako Code-Nr. GM302 (gebrauchsfertig)
- ISH Stringent Wash Buffer (20×) (Dako Omnis); Dako Code-Nr. GM303
- Clarify (Intermedium); Dako Code-Nr. GC810
- Wash Buffer (20×) (Dako Omnis); Dako Code-Nr. GC807
- ISH Cleaning Solution (Dako Omnis); Dako Code-Nr. GC207 (gebrauchsfertig)
- Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis); Dako Code-Nr. GM304 (gebrauchsfertig, enthält 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI))
- Deckgläser für die Eindeckung (24 mm x 50 mm)

## Arbeitsablauf

ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) für die automatisierte direkte Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) Proben im Dako Omnis Gerät mit formalinfixierten und paraffineingebetteten Lungen-Gewebeschnitten (FFPE) verwenden.

Das automatisierte FISH-Färbeverfahren des Dako Omnis umfasst die Entparaffinierung von Gewebeschnitten, Demaskierung, Pepsinandaung, Hybridisierung und stringentes Waschen. Die Objektträger werden in die trockene Entladestation entladen. Alle Protokollschritte sind in der Dako Omnis Software vorprogrammiert.

Es sind für die Verarbeitung im Dako Omnis zwei Protokolle verfügbar: *ALK IQFISH* und *ALK IQFISH (Extra Wash)*. Das *ALK IQFISH* Protokoll verfügt über eine leicht schnellere Laufzeit und ermöglicht für die Verarbeitung von HER2 IQFISH pharmDx (Dako Omnis) Objektträger im selben Dako Omnis Objektträgerhalter. Die Verwendung des *ALK IQFISH (Extra Wash)* Protokolls kann zu einem geringeren Hintergrund führen bei der Untersuchung von Proben. Bitte beachten, dass im selben Objektträgerhalter keine zwei Protokolle angewendet werden dürfen. Über die Dako Link Omnis Workstation können die automatisierten Färbeprotokolle aufgerufen und zusammengefasst in [Tabelle 1](#) werden.

**Tabelle 1** Vereinfachte Übersicht über die automatisierten Färbeprotokolle für ALK IQFISH im Dako Omnis Gerät

Schritt	Reagenz	Zeit und Temperatur
Dewaxing	Clearify (Intermedium)	10 Minuten, 38 °C
Target retrieval (Demaskierung)	ISH Pre-Treatment Solution (Dako Omnis)	15 Minuten, 97 °C
Waschung	ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis)	2 × 3 Minuten, 32 °C
Andauung	ISH Pepsin (Dako Omnis)	30 Minuten
Trocknung	—	15 Minuten, 45 °C
Denaturierung	—	10 Minuten, 66 °C
Hybridisierung	ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis)	75 Minuten, 45 °C
Stringent wash (Stringenzwaschung)	ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis)	10 Minuten, 61 °C
Waschung zum Abkühlen	<b>ALK IQFISH Protokoll:</b> ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis)	Kurze Spülung, 1 Zyklus
	<b>ALK IQFISH (Extra Wash) Protokoll:</b> Wash Buffer (Dako Omnis)	Kurze Spülung, 2 Zyklen

[Tabelle 2](#) beschreibt die Verfahren für die Anwendung der ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) mit den automatisierten Dako Omnis Färbeprotokollen. Anweisungen zum Laden von Objektträgern, ISH Lids, Reagenzien usw. siehe Dako Omnis Handbücher.

**Verfahren zur Vorbereitung der Histology-Reagenzien**

**1 Die ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) vorbereiten.** Das mitgelieferte Fläschchen enthält ein goldbeschichtetes Metallkugelchen für das Mischen. Bevor das Fläschchen in das Dako Omnis geladen werden kann, muss das Reagenz aufgetaut und gründlich gemischt werden, da beim Einfrieren eine Phasentrennung stattfindet.

Für das Mischen der Sonde dient das Mischgerät Dako Omnis Mixing Device, wie unten aufgeführt. Für weitere Einzelheiten das Handbuch zum Mischgerät beachten. Der Fläschchen-Inhalt der ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) muss immer kurz vor dem Laden im Gerät gemischt werden. Das Fläschchen nicht schütteln.

- Das ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako-Omnis)-Fläschchen aus dem Tiefkühler entnehmen und in das Dako Omnis Mischgerät laden.
- Mischgerät anschließen und darauf achten, dass die grüne Statusleuchte leuchtet. Das Programm *Thaw + Mix (Auftauen + Mischen)* auswählen um mit dem Mischen der Fläschchen-Inhalte zu beginnen.
- Nach Beendigung des Programms *Thaw + Mix (Auftauen + Mischen)*, das Fläschchen aus dem Mischgerät herausnehmen.
- Aufgetaut und gemischt sollte das Fläschchen in der aufrechten Position stehen, damit sich keine Sondenflüssigkeit im Deckel sammelt.
- Klappdeckel nach hinten klappen und im ausgesparten Bereich einrasten (siehe Benutzerhandbuch Basiswissen zu Dako Omnis für Einzelheiten).
- Das Fläschchen dann umgehend in das Reagenzienvorratsmodul des Dako Omnis Geräts laden. Wenn während des Färbedurchlaufs die Funktion für kontinuierliches Reagenzladen angewendet wird, muss die Zeit zwischen Mischen und Aspiration des Fläschchen im Dako Omnis mindestens 10 Minuten betragen.
- Wenn der Durchlauf komplett ist, sollte die ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) sofort bei  $-25\text{ °C}$  bis  $-15\text{ °C}$  gelagert werden.

**HINWEIS:** Wenn das Fläschchen unmittelbar nach Erhalt auf Trockeneis verwendet werden soll, muss es vor dem Laden in das Mischgerät aufgetaut werden. Dann muss das Programm *Mix Only (Nur Mischen)* verwendet werden um die Fläschchen-Inhalte zu mischen (nicht das Programm *Thaw + Mix (Auftauen + Mischen)* verwenden).

**2 Die ISH Pre-Treatment Solution vorbereiten.** Eine Arbeitslösung durch Verdünnen der konzentrierten ISH Pre-Treatment Solution (20x) (Dako Omnis) im Verhältnis von 1:20 wie folgt vorbereiten:

- Eine Dako Omnis 3,5-L-Spülflasche mit PTB-Zeichen (blaues Etikett Code-Nr. GC109) bis zur Fülllinie mit entionisiertem Wasser füllen (3,325 Liter). Dabei muss die Spülflasche auf eine gerade Oberfläche gestellt werden, bevor sie gefüllt wird.
- Eine 175-mL-Flasche mit konzentrierter ISH Pre-Treatment Solution (20x) (Dako Omnis) in die Spülflasche leeren. Das Konzentrat enthält einen antimikrobiellen Wirkstoff und einen inerten grünen Farbstoff, damit es einfacher erkennbar ist.
- Das abnehmbare Etikett von der Konzentratflasche auf die Spülflasche kleben. Den Deckel der Spülflasche festdrehen und die Spülflasche vorsichtig 2 bis 3 Mal umdrehen.
- Mit dem tragbaren Dako Omnis Barcode-Lesegerät das Reagenz ermitteln (das abnehmbare Etikett und die Spülflasche scannen).
- Die Spülflasche sofort in das Dako Omnis Gerät laden.

Die verdünnte Lösung ist 7 Tage lang verwendbar, wenn sie im Dako Omnis Gerät aufbewahrt wird. Die Zeitdauer im Gerät wird durch die Dako Omnis Software erfasst. Unverbrauchte verdünnte Lösung kann bei  $2-8\text{ °C}$  30 Tage lang aufbewahrt werden. Nach der Kaltlagerung muss die verdünnte Lösung mindestens  $18\text{ °C}$  erreichen, bevor sie in das Dako Omnis geladen werden kann.

**HINWEIS:** Getrübte verdünnte Lösung entsorgen.

**Tabelle 2** Verfahren

---

**3 ISH Stringent Wash Buffer vorbereiten.** Eine Arbeitslösung durch Verdünnen des konzentrierten ISH Stringent Wash Buffer (20x) (Dako Omnis) im Verhältnis von 1:20 wie folgt vorbereiten:

- Eine Dako Omnis 3,5-L-Spülflasche mit PTB-Zeichen (blaues Etikett Code-Nr. GC109) bis zur Fülllinie mit entionisiertem Wasser füllen (3,325 Liter). Dabei muss die Spülflasche auf eine gerade Oberfläche gestellt werden, bevor sie gefüllt wird.
- Eine 175-mL-Flasche mit konzentriertem ISH Stringent Wash Buffer (20x) (Dako Omnis) in die Spülflasche leeren. Das Konzentrat enthält einen antimikrobiellen Wirkstoff, ein Reinigungsmittel und einen inerten gelben Farbstoff, damit es einfacher erkennbar ist.
- Das abnehmbare Etikett von der Konzentratflasche auf die Spülflasche kleben. Den Deckel der Spülflasche festdrehen und die Spülflasche vorsichtig 2 bis 3 Mal umdrehen.
- Mit dem tragbaren Dako Omnis Barcode-Lesegerät das Reagenz ermitteln (das abnehmbare Etikett und die Spülflasche scannen).
- Die Spülflasche sofort in das Dako Omnis Gerät laden.

Die verdünnte Lösung ist 7 Tage lang verwendbar, wenn sie im Dako Omnis Gerät aufbewahrt wird. Die Zeitdauer im Gerät wird durch die Dako Omnis Software erfasst. Unverbrauchte verdünnte Lösung kann bei 2-8 °C 30 Tage lang aufbewahrt werden. Nach der Kaltlagerung muss die verdünnte Lösung mindestens 18 °C erreichen, bevor sie in das Dako Omnis geladen werden kann.

**HINWEIS:** Getrübte verdünnte Lösung entsorgen.

---

**4 ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) laden.** ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) ist ein gebrauchsfertiges Reagenz. Den Klappdeckel nach hinten klappen und im ausgesparten Bereich einrasten, bevor der Behälter in das Dako Omnis geladen wird.

Die Stabilität von ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) beträgt im Gerät insgesamt **80 Stunden** bei Aufbewahrung im Reagenziovorratsmodul des Dako Omnis. Die Zeitdauer im Gerät wird durch die Dako Omnis Software erfasst. Nach dem Durchlauf kann die ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) auf Lagertemperatur (2-8 °C) gebracht werden, damit die Stabilität im Gerät gewährleistet ist.

---

**5 ISH Pepsin (Dako Omnis) laden.** ISH Pepsin (Dako Omnis) ist ein gebrauchsfertiges Reagenz. Zuerst auftauen und den Klappdeckel nach hinten klappen und im ausgesparten Bereich einrasten, bevor der Behälter in das Dako Omnis geladen wird.

Die Stabilität von ISH Pepsin (Dako Omnis) beträgt im Gerät insgesamt **80 Stunden** bei Aufbewahrung im Reagenziovorratsmodul des Dako Omnis. Die Zeitdauer im Gerät wird durch die Dako Omnis Software erfasst. Nach dem Durchlauf kann das ISH Pepsin (Dako Omnis) auf Lagertemperatur (-18° bis 8 °C) gebracht werden, damit die Stabilität im Gerät gewährleistet ist.

---

**6 Zusätzliches Dako Omnis Zubehör laden.** Das unten aufgeführte Zubehör in das Dako Omnis laden, wie im Dako Omnis Handbuch aufgeführt:

- Entionisiertes Wasser
  - Die Wash Buffer Arbeitslösung, verdünnt aus Wash Buffer (20x) (Dako Omnis), Code-Nr. GC807
  - Clearify (Intermedium), Code-Nr. GC810
  - ISH Cleaning Solution (Dako Omnis), Code-Nr. GC207
  - ISH Lid, Code-Nr. GC102
- 

#### **Vorfärbe-Verfahren**

**1** In der Dako Link Omnis Workstation-Software ein Protokoll für jeden Objektträger auswählen. Unter den IQFISH Protokollen, entweder *ALK IQFISH* oder *ALK IQFISH (Extra Wash)* auswählen.

---

**2** Etiketten für Objektträger ausdrucken und auf den Glasobjektträgern befestigen.

---

**3** Die Objektträger dann in den Objektträgerhalter setzen. Detaillierte Anweisungen siehe Benutzerhandbuch Basiswissen zu Dako Omnis. Der Objektträgerhalter ist groß genug für einen bis fünf Objektträger. Es ist ratsam, mindestens zwei Objektträger in einem ALK IQFISH-Färbedurchlauf zu färben.

---

**4** Den Objektträgerhalter in das Dako Omnis laden.

---

**5** Das (Die) ISH Lid(s) (ein ISH Lid pro Objektträgerhalter) in das Dako Omnis laden.

---

**Tabelle 2** Verfahren

- 6** Sicherstellen, dass sich Spülflaschen mit Flüssigkeit im Gerät befinden, die durch das Dako Omnis Gerät registriert wurden. Die benötigten Spülflüssigkeiten beinhalten: Clarify (Intermedium), verdünnte ISH Pre-Treatment Solution (Dako Omnis), verdünnter ISH Stringent Wash Buffer (Dako Omnis) und verdünnter Wash Buffer (Dako Omnis). Die Vorbereitung dieser Lösungen ist unter [Verfahren zur Vorbereitung der Histology-Reagenzien](#) oben beschrieben.
- 7** Sicherstellen, dass die ISH Ethanol Solution, 96% (Dako Omnis) und das ISH Pepsin (Dako Omnis) sowie die frisch gemischte ALK IQFISH Break-Apart Probe (Dako Omnis) in das Reagenzienvorratsmodul geladen wurden. Sicherstellen, dass alle Klappdeckel der Fläschchen offen sind. Die Vorbereitung dieser Lösungen ist unter [Verfahren zur Vorbereitung der Histology-Reagenzien](#) oben beschrieben.
- 8** Um den Durchlauf bei Verwendung des ausgewählten Färbeprotokoll zu starten, die Anweisungen auf dem Dako Omnis Touchscreen befolgen und *Done (Fertig)* antippen, um das Färbeverfahren zu beginnen. Der Fortschritt des Färbevorgangs kann auf dem Touchscreen auf der Dako Link Omnis Workstation verfolgt werden. Wenn der Durchlauf beendet ist und keine weiteren ISH-Färbungen anstehen, müssen alle Reagenzien im empfohlenen Temperaturbereich aufbewahrt werden.

#### Nach dem Färbverfahren

- 1** Die Objektträgerhalter nach Beenden des Färbevorgangs aus der Dry Unloading Station (Entladestation) von Dako Omnis entnehmen.
- 2** Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) mit DAPI aus der Kaltlagerung für die Anwendung außerhalb des Dako Omnis Geräts erhalten.
- 3** Bis zu 30 µL Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) auf den Zielbereich des Objektträgers applizieren und ein Deckglas hinzufügen. Der Gewebeschnitt muss vollständig von Mounting Medium bedeckt sein. Nach der Anwendung das Fluorescence Mounting Medium (Dako Omnis) umgehend auf Lagertemperatur (2-8 °C) bringen.
- 4** Den Objektträger unter einem Fluoreszenzmikroskop mit Cy3/FITC oder orangem/grünem Doppelfilter überprüfen. Die Objektträger können in einem Zeitraum zwischen 15 Minuten und 7 Tagen nach Fixierung abgelesen werden.
- 5** Um ein Verblässen so gering wie möglich zu halten, sind die Objektträger bei -18 bis 8 °C im Dunkeln aufzubewahren.

#### Beschränkungen des Verfahrens

Die ordnungsgemäße Aufbewahrung und Handhabung der Reagenzien und Proben ist entscheidend für die Leistung. Alle Laborgeräte, die bei diesem Verfahren zur Vorbereitung der Zielsequenz eingesetzt werden, sollten kalibriert und gewartet werden, um eine optimale Genauigkeit zu gewährleisten. Eine inkorrekte Messung der Reagenzien kann das Ergebnis des Verfahrens beeinflussen.



**Technical Support  
Assistance  
technique  
Technischer  
Kundendienst**

Country Pays Land	E-mail Adresse électronique E-mail	Telephone (Local toll-free) Téléphone (Local gratuit) Telefon (Gebührenfreie Nummer)
Austria	customercare_Austria@agilent.com	01 25125 6800
Belgium	customercare_Belgium@agilent.com	02 404 92 22
Denmark	customercare_Denmark@agilent.com	45 70 13 00 30
Finland	customercare_Finland@agilent.com	010 802 220
France	customercare_France@agilent.com	0810 446 446
Germany	customercare_Germany@agilent.com	0800 603 1000
Italy	customercare_Italy@agilent.com	800 012575
Netherlands	customercare_Netherlands@agilent.com	020 547 2600
Spain	customercare_Spain@agilent.com	901 11 68 90
Sweden	customercare_Sweden@agilent.com	08 506 4 8960
Switzerland	customercare_Switzerland@agilent.com	0848 8035 60
UK/Ireland	customercare_UK@agilent.com	0845 712 5292

**All other countries / Tous les autres pays / Alle anderen Länder**

<http://www.agilent.com/genomics/contactus>

**Symbol Table  
Tableau des  
symboles  
Symboltabelle**

	Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer		European Conformity Conformité européenne Europäische Konformität
	Batch code Code du lot Chargenbezeichnung		Use-by date Date de péremption Haltbarkeitsdatum
	Temperature limit Limite de température Temperaturbegrenzung		Manufacturer Fabricant Hersteller
	Contains sufficient for <n> tests Contenance suffisante pour <n> tests Enthält Material für <n> Tests		<i>In vitro</i> diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> <i>In vitro</i> -Diagnostikum
	Irritant Irritant Reizend		Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten
	Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft		Unique Device Identifier Identifiant unique des dispositifs (IUD) Eindeutige Gerätekennung

Agilent Technologies, Inc.  
5301 Stevens Creek Blvd, Santa Clara, CA 95051, USA  
Manufactured at / Fabriqué à / Hergestellt in:  
1834 State Hwy 71 W, Cedar Creek, TX 78612, USA  
[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

Agilent Technologies Denmark ApS  
Produktionsvej 42  
2600 Glostrup, Denmark

© Agilent Technologies, Inc. 2016, 2020, 2022



Revision C1, May 2022



5990-3083