

MiSeq™ Dx Reagent Kit v3

KUN TIL IN VITRO-DIAGNOSTIK

Tilsigtet brug

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 er et sæt af reagenser og materialer beregnet til sekventering af prøvebiblioteker ved anvendelse med validerede analyser. MiSeqDx Reagent Kit v3 er beregnet til anvendelse med MiSeqDx-instrumentet og den tilhørende analysesoftware.

Procedureprincipper

Inputtet til MiSeqDx Reagent Kit v3 består af biblioteker, der er klargjort fra DNA, med tilføjelse af prøveindekser og optagelsessekvenser til mål. Prøvebibliotekerne fanges på en flowcelle og sekventeres på instrumentet ved brug af SBS-kemi (Sequencing By Synthesis). SBS-kemien anvender en reversibel terminator-metode til at påvise fluorescensmærkede enkelt nukleotidbaser, når de inkorporeres i voksende DNA-streng.

Se indlægssedlen til MiSeqDx-instrumentet for din region og version af instrumentsoftwaren for instruktioner i, hvordan du udfører sekventering på MiSeqDx-instrumentet.

Procedurens begrænsninger

- Til *in vitro*-diagnostisk brug.
- De begrænsninger, der er beskrevet i denne indlægsseddel, er baseret på repræsentative analyser og softwaremoduler, herunder Germline Variant Module og Somatic Variant Module i Local Run Manager, der blev udviklet til formålet at evaluere ydeevnen ved hjælp af repræsentative analyser.
- Læsninger, der indeholder indsættelser, sletninger eller kombinationer deraf (indeks). Indhold med en længde på > 25 bp bliver ikke tilpasset af analysesoftwaren. Som følge heraf påviser prøvesoftwaren ikke indels med en længde på > 25 basepar (bp).
- Systemet er blevet valideret til at detektere enkelt nukleotidvariationer (SNV'er) og sletning af op til 25 bp og indsættelse af op til 24 bp, når de anvendes sammen med modulsoftwaren Germline og Somatic Variant. Til bestemmelse af somatiske variationer med en variationsfrekvens på 0,05 blev der registreret sletning af 25 bp og indsættelse af 18 bp.

- Analysesoftwaren tilpasser muligvis ikke ampliconlæsninger med ekstrem variation i indholdet, hvilket medfører, at regionen rapporteres som en vildtype. Sådant ekstremt indhold omfatter:
 - Læsninger, der indeholder mere end tre indels
 - Læsninger med en længde på mindst 30 bp med SNV-indhold > 4 % af den samlede ampliconmålængde (eksklusive probeområder)
 - Læsninger med en længde på < 30 bp med SNV-indhold > 10 % af den samlede ampliconlængde (inklusive probeområder)
- Store varianter, inklusive multinukleotid-varianter (MNV'er) og store indels, kan rapporteres som separate mindre varianter i VCF-outputfilen.
- Sletningsvariationer kan blive frasorteret eller overset, hvis de spænder over to sideliggende ampliconer, og sletningslængden er over eller lig med overlappningen mellem de to ampliconer.
- Systemet kan ikke påvise indels, hvis de støder direkte op til en primer, og der ikke er noget overlappende amplicon. For områder med overlappende ampliconer kan analysen ikke påvise sletninger, hvis området med overlappning er mindre end størrelsen på den pågældende sletning. Eksempel: Hvis området med overlappning mellem to sideliggende ampliconer er to baser, kan analysen ikke påvise nogen sletninger, inklusive begge disse baser. En enkelt basesletning på en af disse baser kan påvises.
- Ligesom det gælder for enhver anden hybridiseringsbaseret arbejdsgang til biblioteksklargøring, kan underliggende polymorfismer, mutationer, indsættelser eller sletninger i oligonukleotidbindende områder påvirke de alleler, der undersøges, og dermed de bestemmelser, der frembringes under sekventeringen. For eksempel:
 - En variation i fase med en variation i primerområdet forstærkes muligvis ikke, hvilket resulterer i en falsk negativ.
 - Variationer i primerområdet kan forhindre amplificering af referenceallelen, hvilket medfører ukorrekt bestemmelse af homozygotvariationen.
 - Indelvariationer i primerområdet kan forårsage et falsk positivt resultat ved enden af læsningen, der støder op til primeren.
- Indels kan frasorteres på grund af strengpåvirkning, hvis de forekommer nær enden af en læsning, og er blevet blødt afkortet i forbindelse med tilpasning.
- Små MNV'er er ikke blevet valideret, og de rapporteres kun i Somatic Variant Module.
- Sletninger rapporteres i VCF på den foregående base pr. VCF-format. Derfor bør tilstødende variationer tages i betragtning, inden det rapporteres, at en individuel basebestemmelse er homozygot.
- Kimcellespecifikke begrænsninger:
 - MiSeqDx-instrumentet er designet til at levere kvalitative resultater i forbindelse med bestemmelse af kimcellevariationer (f.eks. homozygot, heterozygot, vildtype) ved hjælp af Germline Variant Module i Local Run Manager.

- Brug af Germline Variant Module kræver en minimal dækning pr. amplicon på 150x for at opnå nøjagtig variationsbestemmelse. Som følge heraf kræves 150 understøttende DNA-fragmenter, hvilket svarer til 300 overlappende læsninger med paired-end. Antallet af prøver og det samlede antal målrettede baser påvirker dækningen. CG-indholdet og andet genomisk indhold kan påvirke dækningen.
- Forskelle i kopiantal kan påvirke, hvorvidt en variation bliver identificeret som homozygot eller heterozygot.
- Variationer i bestemt repetitiv kontekst filtreres fra i VCF-filerne. RMxN-gentagelsesfilteret anvendes til at frasortere variationer, hvis hele eller dele af variationssekvensen er til stede gentagne gange i referencegenomet, der støder op til variationens position. Hvad angår bestemmelsen af kimcellevariationer, skal der være mindst ni gentagelser i referencen, før variationen filtreres, og kun gentagelser med en længde på op til 5 bp tages i betragtning (R5x9).
- Somatisk-specifikke begrænsninger:
 - MiSeqDx-instrumentet er designet til at levere kvalitative resultater i forbindelse med somatisk variationsbestemmelse (f.eks. somatisk variation med en variationshyppighed på $\geq 0,026$ med en detektionsgrænse på 0,05 ved hjælp af Somatic Variant Module i Local Run Manager.
 - Brug af Somatic Variant Module kræver en minimal dækning pr. amplicon på 450x pr. oligonukleotidpulje pr. oligonukleotidpulje for at opnå nøjagtig variationsbestemmelse. Som følge heraf kræves 450 understøttende DNA-fragmenter pr. oligonukleotidpulje, hvilket svarer til 900 overlappende læsninger med paired-end. Antallet af prøver og det samlede antal målrettede baser påvirker dækningen. CG-indholdet og andet genomisk indhold kan påvirke dækningen.
 - Hvad angår somatisk variationsbestemmelse, skal der være mindst seks gentagelser i referencen, før variationen filtreres, og kun gentagelser med en længde på op til 3 bp tages i betragtning (R3x6).
 - Somatic Variant Module kan ikke skelne mellem kimcellevariationer og somatiske variationer. Modulet er designet til at påvise variationer på tværs af en række variationsfrekvenser, men variationsfrekvenser kan ikke anvendes til at skelne mellem somatiske variationer og kimcellevariationer.
 - Normalvæv i prøven påvirker påvisningen af variationer. Den rapporterede detektionsgrænse er baseret på en variationsfrekvens i forhold til det samlede DNA, der er ekstraheret fra både tumor- og normalvæv.

Produktkomponenter

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3, katalognr. 20037124, består af følgende:

- Biblioteksfortyndingsbuffer, flowcelle og reagenser inden amplifikation

Medfølgende reagenser

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 er et sæt af reagenser og materialer til engangsbrug til sekventering af én kørsel af et eller flere prøvebiblioteker på MiSeqDx-instrumentet. Antallet af prøvebiblioteker afhænger af den multipleksering, der understøttes af den tidligere biblioteksklargøringsmetode.

I de følgende tabeller vises en komplet liste over de reagenser, der følger med dette sæt.

MiSeqDx Reagent Kit v3, boks 1

Tabel 1 Boks 1 Reagenser efter amplifikation

Komponent	Antal	Fyldningsvolumen	Aktive stoffer	Opbevaring
Biblioteks- fortyndingsbuffer	1 rør	4,5 ml	Vandig bufferopløsning	-25 °C til -15 °C
MiSeqDx Reagent v3-kassette (RFID- mærket)	1 hver	Diverse	Kassette til engangsbrug, der er fyldt ved leveringen	-25 °C til -15 °C

MiSeqDx Reagent Kit v3, boks 2

Tabel 2 Boks 2 Reagenser efter amplifikation

Komponent	Antal	Fyldningsvolumen	Aktive stoffer	Opbevaring
MiSeqDx SBS- opløsning (PR2) (RFID-mærket)	1 flaske	500 ml	Vandig bufferopløsning	2 °C til 8 °C
MiSeqDx Flow Cell (RFID- mærket)	1 hver	I/T	Engangsbrug, paired-end, glasflowcelle i vandig bufferopløsning	2 °C til 8 °C

Opbevaring og håndtering

- Rumtemperatur er defineret som 15 °C til 30 °C.
- De følgende reagenser afsendes frosne og er stabile ved opbevaring mellem -25 °C og -15 °C indtil den angivne udløbsdato.
 - Biblioteksfortyndingsbuffer
 - MiSeqDx Reagent v3 Cartridge

BEMÆRK! Biblioteksfortyndingsbufferen og MiSeqDx Reagent v3-kassetten er udelukkende til engangsbrug og er stabile ved maksimalt én optøning ved stuetemperatur inden den angivne udløbsdato. Reagenskassetten skal indlæses med prøvebibliotek og køres på MiSeqDx-instrumentet umiddelbart efter optøning. Alternativt kan den optøede reagenskassette opbevares ved 2 °C til 8 °C i op til seks timer og herefter indlæses med prøvebibliotek og straks køres på MiSeqDx-instrumentet.

- De følgende reagenser afsendes frosne og er stabile ved opbevaring mellem 2 °C til 8 °C indtil den angivne udløbsdato.
 - MiSeqDx SBS Solution (PR2)
 - MiSeqDx Flow CellMiSeqDx SBS Solution (PR2) og MiSeqDx Flow Cell er udelukkende til engangsbrug.
- Ændringer i reagensernes udseende kan være tegn på nedbrydning af materialerne. Reagenserne må ikke anvendes, hvis de ændrer udseende (f.eks. markant farveændring eller uklarhed, der kan tyde på mikrobiel kontaminering).

Påkrævet udstyr og materialer, der sælges separat

- **MiseqDx-instrument**, katalognr. DX-410-1001

Advarsler og forsigtighedsregler



FORSIGTIG

I henhold til amerikansk forbundslov må dette udstyr kun sælges på recept fra en læge eller anden behandler med lovlige autorisation til at anvende eller ordinere anvendelse af udstyret i den stat, hvor han/hun praktiserer.



ADVARSEL

Dette reagenssæt indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger. Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

(Se Reagenser på side 1 for at få mere at vide.)

- Manglende overholdelse af de beskrevne fremgangsmåder kan resultere i ukorrekte resultater eller betydeligt nedsat prøve kvalitet.
- Overhold laboratoriets rutinemæssige forholdsregler. Må ikke pipetteres med munden. Der må ikke indtages mad og drikke eller ryges i arbejdsområderne. Anvend engangshandsker og laboratoriekittel i forbindelse med håndtering af prøver og analysereagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og analysereagenser.
- Der skal anvendes korrekt laboratoriepraksis og god laboratoriehygiejne for at forhindre, at PCR-produkterne kontaminerer reagenser, instrumenter og genomiske DNA-prøver. PCR-kontaminering kan forårsage unøjagtige og upålidelige resultater.
- For at forhindre kontaminering skal det sikres, at de områder, der anvendes før og efter amplifikationen, har udstyr, der er beregnet til formålet (f.eks. pipetter, pipettespidser, vortexblander og centrifuge).
- Indekset til prøveparring skal matche det trykte pladelayout nøjagtigt. Local Run Manager udfylder automatisk de indeksprimere, der er knyttet til prøvenavnene, når de indtastes i modulet. Kontrollér de indeksprimere, der er knyttet til prøverne, inden sekventeringskørslen startes. Uoverensstemmelser mellem det trykte pladelayout og prøven resulterer i manglende positiv prøveidentifikation og rapportering af ukorrekte resultater.
- Alle alvorlige hændelser, der er relateret til dette produkt, skal omgående indberettes til Illumina og de kompetente myndigheder i brugerens og/eller patientens opholdsland.

Brugervejledning

Se indlægssedlen til MiSeqDx-instrumentet for din region og version af instrumentsoftwaren.

Ydelsesegenskaber

Se indlægssedlen til MiSeqDx-instrumentet for din region og version af instrumentsoftwaren.

Revisionshistorik

Dokumentnr.	Dato	Beskrivelse af ændring
Dokumentnr. 1000000030849 v04	November 2021	Opdaterede referencer i indlægssedlen til MiSeqDx-instrumentet. Opdaterede Procedurens begrænsninger og Advarsler og forsigtighedsregler i form af yderligere præciseringer. Mindre opdateringer for at tilpasse indholdet til Illuminas stil og standarder.
Dokumentnr. 1000000030849 v03	August 2021	Opdaterede adressen på EU-godkendt repræsentant. Tilføjelse af revisionshistorik.

Patenter og varemærker

Dette dokument og dets indhold er ophavsretligt beskyttet af Illumina, Inc. og dets datterselskaber ("Illumina") og er udelukkende beregnet til kundens kontraktmæssige brug i forbindelse med anvendelsen af det produkt eller de produkter, som er beskrevet heri, og ikke til noget andet formål. Dette dokument og dets indhold må ikke bruges eller distribueres til noget andet formål og/eller på anden måde kommunikeres, offentliggøres eller reproduceres på nogen som helst måde uden forudgående skriftligt samtykke fra Illumina. Med dette dokument udsteder Illumina ingen licens under sit patent, varemærke, sin copyright eller sædvaneret eller tredjeparters lignende rettigheder.

Instruktionerne i dette dokument skal følges nøje og fuldstændigt af kvalificerede og behørigt uddannede medarbejdere for at sikre,

at det produkt eller de produkter, der er beskrevet heri, anvendes korrekt og sikkert. Alt indhold i dette dokument skal læses grundigt og forstås inden brug af produktet/produkterne.

HVIS ALLE INSTRUKTIONERNE HERI IKKE GENNEMLÆSES FULDT UD OG FØLGES NØJE, KAN DET MEDFØRE SKADE PÅ PRODUKTET ELLER PRODUKTERNE, SKADE PÅ PERSONER, HERUNDER BRUGERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANDEN EJENDOM OG VIL GØRE ENHVER GARANTI GÆLDENDE FOR PRODUKTET ELLER PRODUKTERNE UGYLDIG.

ILLUMINA PÅTAGER SIG INTET ANSVAR SOM FØLGE AF FORKERT BRUG AF DET PRODUKT ELLER DE PRODUKTER, DER ER BESKREVET HERI (HERUNDER DELE HERAF ELLER SOFTWARE).

© 2021 Illumina, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

Alle varemærker tilhører Illumina, Inc. eller de respektive ejere. Specifikke varemærkeoplysninger er tilgængelige på www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktoplysninger



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (uden for Nordamerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Holland

Australsk sponsor

Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Australien

Produktmærkning

Du kan finde en fyldestgørende forklaring til de symboler, der kan fremgå af produktemballagen og -mærkningen, i symbolforklaringen til det pågældende kit på support.illumina.com.