

Набір реагентів MiSeqDx, версія 3

ВИКОРИСТОВУВАТИ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO

Номер за каталогом: 20012552 або 20037124: 1 прогін

Передбачене використання

Набір реагентів Illumina MiSeqDx™, версія 3, — це комплект реагентів і витратних матеріалів, призначених для секвенування бібліотек зразків у разі використання з валідованими аналізами. Набір реагентів MiSeqDx, версія 3, призначено для використання з приладом і аналітичним програмним забезпеченням MiSeqDx.

Принципи проведення процедури

Для введення в набір реагентів MiSeqDx, версія 3, використовуються бібліотеки, підготовлені з ДНК, де індекси зразків і послідовності для захоплення додаються до мішеней. Бібліотеки зразків фіксуються на проточній кюветі та секвенуються на приладі за допомогою хімічної реакції секвенування шляхом синтезу (SBS). У хімічній реакції SBS використовується метод оборотних термінаторів для виявлення флуоресцентно-мічених одонуклеотидних основ, тому що їх включено в нитки ДНК, які зростають.

В Інструкції з використання приладу MiSeqDx (документ № 1000000021963) представлено вказівки з виконання секвенування на приладі MiSeqDx.

Обмеження процедури

- 1 Використовувати для діагностики *in vitro*.
- 2 Зчитування, що містять інсерції, делеції або їхні комбінації (індели).
Вміст довжиною > 25 п. о. програмним забезпеченням аналізу не вирівнюється. Отже, програмне забезпечення аналізу не виявляє індели довжиною > 25 пар основ (п. о.).
- 3 Систему було валідовано на виявлення одонуклеотидних варіантів (single nucleotide variants, SNV), делецій до 25 п. о. та інсерцій до 24 п. о. в разі використання з програмним забезпеченням модулів Germline Variant і Somatic Variant. Для соматичних розпізнавань із варіантною частотою 0,05 було виявлено делеції довжиною 25 п. о. та інсерції довжиною 18 п. о.
- 4 Програмне забезпечення аналізу може не вирівнювати зчитування ампліконів з край високим вмістом варіантів, через що відповідна ділянка буде визначена як дикий тип. Такий край високий вміст передбачає наведене нижче.
 - ▶ Зчитування, що містять понад три індели.
 - ▶ Зчитування довжиною щонайменше 30 п. о. із вмістом SNV > 4 % загальної цільової довжини ампліконів (за винятком ділянок зондів).
 - ▶ Зчитування довжиною < 30 п. о. із вмістом SNV > 10 % загальної довжини ампліконів (включно з ділянками зондів).
- 5 Великі варіанти, зокрема багатонуклеотидні варіанти (multi-nucleotide variants, MNV) і великі інсерції/делеції, можуть бути визначені як окремі менші варіанти у вихідному файлі VCF.
- 6 Варіанти делецій можна фільтрувати або пропускати під час стягуванні двох сегментованих ампліконів, якщо довжина делеції дорівнює перекриттю між сегментованими ампліконами або більша.
- 7 Система не здатна виявляти інсерції/делеції, коли вони виникають прямо поряд із праймером, а амплікон із перекриттям відсутній. Для ділянок з ампліконами, що перекриваються, аналіз не здатен виявити делеції, коли така ділянка перекриття менша за розмір делеції, яку потрібно виявити. Наприклад, якщо ділянка перекриття між двома суміжними ампліконами становить дві основи, аналіз не може виявити жодні делеції, зокрема ці обидві основи. Одноосновну делецію на будь-якій із цих основ виявити можна.

- 8 Як і у випадку з будь-яким робочим процесом підготовки бібліотеки на основі гібридизації, первинні поліморфізми, мутації, інсерції або делеції в ділянках зв'язування олігонуклеотидів можуть впливати на алелі, що досліджуються, а, отже, розпізнавання під час секвенування. Приклад наведено далі.
 - ▶ Варіант у фазі, де варіант перебуває в ділянці праймера, може не піддаватися ампліфікації, що призводить до хибнонегативних результатів.
 - ▶ Варіанти в ділянці праймера можуть заважати ампліфікації референсного алелю, що призводить до невірного розпізнавання гомозиготного варіанта.
 - ▶ Варіанти інделів у ділянці праймера можуть призводити до хибнопозитивного розпізнавання в кінці зчитування біля праймера.
- 9 Індели можна фільтрувати завдяки викривленню нитки, якщо вони виникають поруч із кінцем одного зчитування та піддаються м'якому усіченню під час вирівнювання.
- 10 Малі MNV валідацію не проходили, і про них повідомляється лише в модулі для соматичних варіантів Somatic Variant Module.
- 11 Про делеції повідомляється у файлі VCF у координаті попередньої основи відповідно до формату VCF. Тому, перш ніж повідомляти про окреме розпізнавання основи як про гомозиготний референсний варіант, розгляньте суміжні варіанти.
- 12 Обмеження, що стосуються зародкової лінії.
 - ▶ Прилад MiSeqDx, у якому використовується Local Run Manager Germline Variant Module, призначений для отримання якісних результатів розпізнавання варіантів зародкової лінії (наприклад, гомозиготних, гетерозиготних, дикого типу).
 - ▶ Коли використовується модуль Germline Variant Module, мінімальне охоплення на амплікон, потрібне для точного розпізнавання варіантів, становить 150x. У результаті потрібно 150 допоміжних фрагментів ДНК, що дорівнює 300 парним зчитуванням, які перекриваються. На охоплення впливають кількість зразків і загальна кількість основ-мішеней. На охоплення може впливати GC-склад та інший геномний уміст.
 - ▶ Варіація числа копій може впливати на те, яким буде визначено варіант: гомозиготним чи гетерозиготним.
 - ▶ У файлах VCF варіанти в певному повторному контексті відфільтровуються. Для фільтрації варіантів використовується фільтр повторів R_MxN, якщо вся послідовність варіанта або її частина повторно присутня в референсному геномі, суміжному з позицією варіанта. Для розпізнання варіантів зародкової лінії в референсному геномі потрібно принаймні дев'ять повторів, щоб варіант було відфільтровано. До уваги беруться лише повтори довжиною до 5 п. о. (R5x9).
- 13 Обмеження, що стосуються соматичних варіантів.
 - ▶ Прилад MiSeqDx, у якому використовується модуль Local Run Manager Somatic Variant Module, призначений для отримання якісних результатів розпізнавання соматичних варіантів (тобто наявність соматичного варіанту з варіантною частотою $\geq 0,026$ із межею виявлення 0,05).
 - ▶ Коли використовується модуль Somatic Variant Module, мінімальне охоплення на амплікон, потрібне для точного розпізнавання варіантів, становить 450x на пул олігонуклеотидів. У результаті потрібно 450 допоміжних фрагментів ДНК на пул олігонуклеотидів, що дорівнює 900 парним зчитуванням, які перекриваються. На охоплення впливають кількість зразків і загальна кількість основ-мішеней. На охоплення може впливати GC-склад та інший геномний уміст.
 - ▶ Для розпізнавання соматичних варіантів у референсному геномі потрібно принаймні шість повторів, щоб варіант було відфільтровано. До уваги беруться лише повтори довжиною до 3 п. о. (R3x6).
 - ▶ Модуль Somatic Variant Module не здатен відрізнити варіанти зародкової лінії від соматичних варіантів. Модуль призначений для виявлення варіантів у межах діапазону варіантних частот, але варіантна частота не може використовуватися для диференціації соматичних варіантів від варіантів зародкової лінії.
 - ▶ Нормальна тканина в зразку впливає на виявлення варіантів. Визначена межа виявлення базується на варіантній частоті відносно загальної ДНК, виділеної як із пухлини, так і з нормальної тканини.

Компоненти виробу

Набір реагентів Illumina MiSeqDx, версія 3, містить наведені далі компоненти.

- ▶ Буфер для розведення бібліотеки, проточна кювета й реагенти для постампліфікації.

Реагенти

Реагенти, що входять у комплект

Набір реагентів Illumina MiSeqDx, версія 3 — це одноразовий комплект реагентів і витратних матеріалів для секвенування одного прогону однієї або кількох бібліотек зразків на приладі MiSeqDx. Кількість бібліотек зразків залежить від мультиплексування, що підтримується попереднім методом підготовки бібліотек.

У таблицях нижче наведено повний список реагентів, що входять до цього набору.

Набір реагентів MiSeqDx, версія 3, коробка 1

Таблиця 1 Коробка 1, реагенти для постампліфікації

Компонент	Кількість	Об'єм наповнення	Активні фармацевтичні складники	Зберігання
Буфер для розведення бібліотеки	1 пробірка	4,5 мл	Буферний водний розчин	Від -25 до -15 °C
Картридж із реагентами MiSeqDx, версія 3 (з маркуванням RFID)	1 кожного	Різне	Одноразовий попередньо заповнений картридж	Від -25 до -15 °C

Набір реагентів MiSeqDx, версія 3, коробка 2

Таблиця 2 Коробка 2, реагенти для постампліфікації

Компонент	Кількість	Об'єм наповнення	Активні фармацевтичні складники	Зберігання
Розчин SBS (PR2) для MiSeqDx (з маркуванням RFID)	1 пляшка	500 мл	Буферний водний розчин	Від 2 до 8 °C
Проточна кювета MiSeqDx (з маркуванням RFID)	1 кожного	Н/Д	Одноразова скляна проточна кювета для парних кінцевих фрагментів у буферному водному розчині	Від 2 до 8 °C

Зберігання й поводження

- 1 Кімнатною температурою вважається температура від 15 до 30 °C.
- 2 Указані нижче реагенти постачаються в замороженому вигляді та є стабільними за умови зберігання за температури від -25 до -15 °C до зазначеної дати завершення терміну придатності.
 - ▶ Буфер для розведення бібліотеки
 - ▶ Картридж із реагентами MiSeqDx, версія 3



ПРИМІТКА

Буфер для розведення бібліотеки та картридж із реагентами MiSeqDx, версія 3, призначені лише для одноразового використання та є стабільними протягом щонайбільше одного розморожування до кімнатної температури до настання дати завершення терміну придатності. Після розморожування картридж із реагентами слід завантажити разом із бібліотекою зразків і негайно прогнати на приладі MiSeqDx. Розморожений картридж із реагентами також можна зберігати за температури від 2 до 8 °C протягом 6 годин, а потім завантажити разом із бібліотекою зразків і негайно прогнати на приладі MiSeqDx.

- 3 Указані нижче реагенти постачаються в охоложеному вигляді та є стабільними за умови зберігання за температури від 2 до 8 °C до зазначеної дати завершення терміну придатності.
 - ▶ Розчин SBS (PR2) для MiSeqDx.

- ▶ Проточна кювета MiSeqDx.
Розчин SBS (PR2) для MiSeqDx і проточна кювета MiSeqDx призначені виключно для одноразового використання.
- 4 Зміни в зовнішньому вигляді реагентів можуть указувати на псування матеріалів. У разі виникнення змін у зовнішньому вигляді (наприклад, очевидні зміни кольору реагентів або їхнє помутніння, що спостерігається на тлі мікробного забруднення) реагенти використовувати заборонено.

Потрібні обладнання й матеріали, продаються окремо

- 1 **Прилад MiSeqDx**, номер за каталогом: DX-410-1001

Застереження



ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Федеральний закон дозволяє продаж цього виробу лише за призначенням або на замову лікарів або інших спеціалістів, які займаються медичною практикою, що мають ліцензію від штату, у якому вони здійснюють свою практику, з метою використання або замовлення на використання цього виробу.

- 1 **Деякі компоненти цього аналізу містять потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може спричинити шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема захист очей, рукавички та лабораторний одяг, з урахуванням ризику впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як із хімічними відходами й утилізуйте їх відповідно до застосованих регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил.** Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції на сторінці support.illumina.com/sds.html. (Докладніше див. в розділі *Реагенти на стор. 3.*)
- 2 Недотримання викладених процедур може призвести до невірних результатів або значного погіршення якості зразка.
- 3 Використовуйте стандартні заходи застереження, прийняті в лабораторії. Не використовуйте піпетування ротом. Не вживайте їжу або напої та не паліть у робочих зонах. Під час роботи зі зразками та реагентами для аналізу надягайте одноразові рукавички й лабораторний одяг. Після роботи зі зразками та реагентами для аналізу ретельно мийте руки.
- 4 Наложні правила поведінки та гігієни в лабораторії є обов'язковими для попередження забруднення реагентів, приладів та інструментів, а також геномних зразків ДНК продуктами ПЛР. Забруднення продуктами ПЛР може призвести до неточних і ненадійних результатів.
- 5 Щоб попередити забруднення, виділіть для зон преампліфікації та постапліфікації спеціальне обладнання (як-от піпетки, наконечники піпеток, вихрову мішалку й центрифугу).
- 6 Парування індексів і зразків має точно відповідати друкованій структурі пластини. Під час введення в модуль Local Run Manager автоматично заповнює праймери індексу, пов'язані з іменем зразку. Перед початком прогону секвенування перевіряйте зв'язок праймерів індексу зі зразками. Невідповідність між друкованою структурою пластини й зразками може завадити виявленню позитивного зразка та призвести до отримання хибного результату.

Інструкції з використання

Див. *Інструкцію з використання приладу MiSeqDx (документ № 100000021963).*

Технічні характеристики

Див. *Інструкцію з використання приладу MiSeqDx (документ № 100000021963).*

Патенти й товарні знаки

Цей документ і його зміст є власністю компанії Illumina, Inc. і її філій (надалі — «Illumina») і призначений виключно для того, щоб користувач використовував вироби виключно за угодою в цілях, описаних у цьому документі. Цей документ і його зміст не слід використовувати або поширювати з будь-якою іншою метою та/або для іншого обговорення, розкриття або відтворення тим або іншим чином без попередньої письмової згоди компанії Illumina. Цим документом компанія Illumina не надає жодного дозволу на свій патент, товарний знак, авторське право або загальноприйняті права, а також на подібні права будь-яких третіх сторін.

Щоб гарантувати правильне та безпечне використання виробів, описаних у цьому документі, кваліфікований і належним чином навчений персонал повинен суворо та чітко дотримуватись інструкцій, описаних у цьому документі. Перед використанням цих виробів потрібно повністю прочитати й зрозуміти весь зміст цього документа.

НЕПОВНЕ ВИВЧЕННЯ ВСІХ ЗАЗНАЧЕНИХ У ЦЬОМУ ДОКУМЕНТІ ВКАЗІВОК І ЇХ НЕЧІТКЕ ДОТРИМАННЯ МОЖЕ ПРИЗВОДИТИ ДО ПОШКОДЖЕННЯ ЦИХ ВИРОБІВ, ТРАВМУВАННЯ ЛЮДЕЙ, ВКЛЮЧНО З КОРИСТУВАЧАМИ АБО ІНШИМИ ОСОБАМИ, І ПОШКОДЖЕННЯ ІНШОЇ ВЛАСНОСТІ, А ТАКОЖ ПРИЗВЕДЕ ДО ВТРАТИ БУДЬ-ЯКИХ ГАРАНТІЙНИХ ЗОБОВ'ЯЗАНЬ, ЗАСТОСОВНИХ ДО ЦИХ ВИРОБІВ.

КОМПАНІЯ ILLUMINA НЕ НЕСЕ ЖОДНОЇ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ, ЩО ВИНИКАЄ ВНАСЛІДОК НЕНАЛЕЖНОГО ВИКОРИСТАННЯ ВИРОБІВ, ОПИСАНИХ У ЦЬОМУ ДОКУМЕНТІ (ВКЛЮЧНО З ЙОГО ЧАСТИНАМИ АБО ПРОГРАМНИМ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯМ).

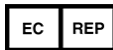
© Illumina, Inc., 2021. Усі права захищено.

Усі товарні знаки — власність компанії Illumina, Inc. або їхніх відповідних власників. Конкретна інформація про товарні знаки зазначена на сторінці www.illumina.com/company/legal.html.

Контактна інформація



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A. (США)
+1 800 809.ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (за межами Північної Америки)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands
(Нідерланди)

Австралійський спонсор

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

Маркування виробу

Повний список символів, які може бути зображено на упаковці або маркуванні виробу, див. в поясненні символів на вебсайті: support.illumina.com.

Уповноважений представник в Україні (Authorized Representative in Ukraine):



ТОВ «БІОЛАБТЕХ ЛТД»
проспект Героїв Сталінграда буд.42-А, кв.45
м. Київ, 04213, Україна

Тел.: +38 044 492 81 88
Електронна адреса: info@biolabtech.com.ua, ЄДРПОУ
34891619