

# MiSeq™ Dx-reagenssisarja v3

IN VITRO -DIAGNOSTISEEN KÄYTTÖÖN

## Aiottu käyttötarkoitus

Illumina MiSeqDx-reagenssisarja v3 on reagenssi- ja tarvikesarja, joka on tarkoitettu näytekirjastojen sekvensointiin vahvistettuja määrittämiä käyttämällä. MiSeqDx-reagenssisarja v3 on tarkoitettu käytettäväksi MiSeqDx-laitteen ja analyysiohjelmiston kanssa.

## Menetelmän periaatteet

Syöttöä varten MiSeqDx-reagenssisarja v3 käyttää DNA:sta valmistettuja kirjastoja, joihin näyteindeksit ja kaappaussekvenssit lisätään vahvistettuihin kohteisiin. Näytekirjastot kaapataan virtauskyvetiin ja sekvensoidaan instrumenttiin synteesin (SBS-kemian) avulla. SBS-kemiassa käytetään palautuvan terminaattorin menetelmää fluoresoivasti merkittyjen yksittäisten nukleotidimästen havaitsemiseen, kun ne sisällytetään kasvaviin DNA-säikeisiin.

Saat ohjeet sekvensoinnin suorittamiseen MiSeqDx-laitteessa aluekohtaisesta ja käytössä olevan ohjelmistoversion mukaisesta MiSeqDx-laitteen pakkausselosteesta.

## Menetelmän rajoitukset

- *In vitro* -diagnostiseen käyttöön.
- Tässä pakkausselosteessa kuvatut rajoitukset perustuvat edustaviin määrittämiin ja ohjelmistomoduuleihin, joihin lukeutuvat Local Run Managerin ituratavarianttianalyysimoduuli ja somaattinen varianttianalyysimoduuli, jotka kehitettiin edustavien määrittämien suorituskyvyn arviointia varten.
- Readit, jotka sisältävät insertioita, deleetioita tai niiden yhdistelmiä (indeleitä). Määrittämiohjelmisto ei kohdista sisältöä, jonka pituus > 25 bp. Tämän vuoksi indelit, joiden pituus on > 25 emäsparia (bp), eivät ole todettavissa määrittämiohjelmistossa.
- Järjestelmä on validoitu yksittäisen nukleotidin varianttien (SNV:t) ja pituudeltaan korkeintaan 25 emäsparin deleetioiden ja 24 emäsparin insertioiden tunnistamiseen ituraja- ja somaattisen varianttimoduulin ohjelmiston kanssa käytettäessä. Somaattista tunnistusta varten tunnistettiin 25 emäsparia deleetioita ja 18 emäsparia insertioita varianttitaajuudella 0,05.

- Määrittelyohjelmisto ei ehkä kohdista amplikonin readeja, joissa on äärimmäinen varianttisisältö, jolloin alue ilmoitetaan wild-tyyppiseksi. Tällainen äärimmäinen sisältö on muun muassa seuraavanlaista:
  - Enemmän kuin kolme indeliä sisältävät readit
  - Read-pituudet, jotka ovat vähintään 30 bp ja joiden yksittäisen nukleotidivariantin (SNV) pitoisuus on > 4 % amplikonin kokonaiskohdepituudesta (sondialueet pois lukien)
  - Readit, joiden pituus on < 30 bp ja joiden SNV-sisältö on > 10 % kokonaisamplikonipituudesta (sondialueet mukaan lukien)
- Suuret variantit, muun muassa moninukleotidivariantit (MNV:t) ja suuret indelit, voidaan ilmoittaa erillisinä pienempinä variantteina VCF-tuotostiedostossa.
- Deleetiovariantit voidaan suodattaa tai jättää huomiotta, kun alueena on kaksi vierekkäistä amplikonina, mikäli deleetiopituus on suurempi tai yhtä suuri kuin vierekkäisten amplikonien välinen päällekkäisyys.
- Järjestelmä ei pysty toteamaan indeleitä, mikäli ne ilmenevät välittömästi alukkeeseen vieressä ja mikäli päällekkäistä amplikonina ei ole. Alueilla, joilla on päällekkäisiä amplikoneja, määrityksellä ei voida todeta deleetioita, kun päällekkäisyysalue on pienempi kuin todettavan deleetion koko. Mikäli kahden vierekkäisen amplikonin välinen päällekkäisyysalue on esimerkiksi kaksi emästä, määrityksellä ei voida todeta deleetioita, joihin molemmat emäkset sisältyvät. Yksittäisen emäksen poisto jommankumman emäksen kohdalla voidaan todeta.
- Kuten minkä tahansa hybridisaatiopohjaisen kirjaston valmistelutyönkulun yhteydessä, piilevät polymorfismit, mutaatiot, lisäykset tai poistot oligonukleotidejä sitovilla alueilla saattavat vaikuttaa tutkittaviin alleeleihin ja näin ollen sekvensoinnin aikana tehtyihin tunnistuksiin. Esimerkkejä:
  - Varianttia faasissa, jossa on variantti alukealueella, ei ehkä amplifioida, jolloin tuloksena saadaan väärä negatiivinen tulos.
  - Alukealueella olevat variantit saattavat estää viitealleelin amplifikaation, mikä johtaa virheelliseen homotsygoottisen variantin tunnistamiseen.
  - Alukealueella olevat indelivariantit saattavat aiheuttaa väärän positiivisen tunnistuksen alukkeeseen vieressä olevan readin päässä.
- Indelit voidaan suodattaa säikeen vääristymän vuoksi, jos ne ilmenevät yhden readin pään lähellä ja jos ne leikataan pehmeästi kohdistuksen aikana.
- Pieniä MNV-kohteita ei ole validoitu, ja ne vain ilmoitetaan somaattisessa varianttimoduulissa.
- Deleetioista ilmoitetaan VCF:ssä VCF-formaatin edellisen emäksen koordinaateissa. Näin ollen ota huomioon viereiset variantit ennen kuin ilmoitat yksittäisen emästunnistuksen homotsygoottiseksi viitteeksi.
- Ituratakohtaiset rajoitukset:
  - MiSeqDx-laite, jossa käytetään Local Run Managerin ituratavarianttimoduulia, on suunniteltu antamaan kvalitatiivisia tuloksia ituradan varianttien tunnistamiseksi (esim. homotsygoottinen, heterotsygoottinen, wild-tyyppi).

- Ituratavarianttimoduulin kanssa käytettynä oikeelliseen variantin tunnistamiseen tarvitaan vähintään 150x:n kattavuus amplikonin kohti. Tämän vuoksi tarvitaan 150 tukevaa DNA-fragmenttia, mikä vastaa 300 päällekkäistä paired-end-readia. Näytteiden määrä ja kohdennettujen emästen kokonaismäärä vaikuttavat kattavuuteen. GC-pitoisuus ja muu genomipitoisuus saattavat vaikuttaa kattavuuteen.
- Jäljennösmäärien variaatio saattaa vaikuttaa siihen, tunnistetaanko variantti homotsygoottiseksi vai heterotsygoottiseksi.
- Tietyissä toistuvassa kontekstissa variantit suodatetaan pois VCF-tiedostoissa. RMxN-toistosuodatinta käytetään suodattamaan variantteja, mikäli varianttisekvenssi on osittain tai kokonaan toistuvasti läsnä varianttiaseman viitegenomissa. Ituradan variantin tunnistamisessa tarvitaan vähintään yhdeksän toistoa viitteessä, jotta variantti voidaan suodattaa, ja huomioon otetaan vain toistot, joiden pituus on enintään 5 bp (R5x9).
- Somaattis-spesifiset rajoitukset:
  - MiSeqDx-laite, jossa käytetään Local Run Managerin somaattista varianttimoduulia, on suunniteltu antamaan kvalitatiivisia tuloksia somaattisen variantin tunnistamiseen (esim. sellaisen somaattisen variantin läsnäolo, jonka varianttitaajuus  $\geq 0,026$  ja toteamisraja 0,05).
  - Somaattisen varianttimoduulin kanssa käytettynä oikeelliseen variantin tunnistamiseen tarvitaan vähintään 450x:n kattavuus oligonukleotidipoolia kohti. Tämän vuoksi tarvitaan 450 tukevaa DNA-fragmenttia oligonukleotidipoolia varten, mikä vastaa 900 päällekkäistä paired-end-readia. Näytteiden määrä ja kohdennettujen emästen kokonaismäärä vaikuttavat kattavuuteen. GC-pitoisuus ja muu genomipitoisuus saattavat vaikuttaa kattavuuteen.
  - Somaattisen variantin tunnistamisessa tarvitaan vähintään kuusi toistoa viitteessä, jotta variantti voidaan suodattaa, ja huomioon otetaan vain toistot, joiden pituus on enintään 3 bp (R3x6).
  - Somaattinen varianttimoduuli ei voi tehdä eroa ituradan ja somaattisten varianttien välillä. Moduuli on suunniteltu toteamaan variantteja varianttien taajuusalueiden poikki, mutta varianttien taajuutta ei voida käyttää erottamaan somaattisia variantteja ituratavarianteista.
  - Näytteessä oleva normaali kudos vaikuttaa varianttien toteamiseen. Ilmoitettu toteamisraja perustuu varianttitaajuuteen suhteessa sekä tuumorista että normaalista kudoksesta poimittuun kokonais-DNA:han.

## Tuotteen osat

Illumina MiSeqDx -reagenssisarja v3, tuotenro 20037124 koostuu seuraavista osista:

- Kirjaston laimennuspuskuri, virtauskyvetti ja monistuksen jälkeiset reagenssit

# Mukana tulevat reagenssit

illumina MiSeqDx -reagenssisarja v3 on kertakäyttöinen reagenssi- ja tarvikesarja yhden tai useamman näytekirjaston sekvensointiin yhdellä ajolla MiSeqDx-laitteella. Näytekirjastojen määrä riippuu alkupään kirjastovalmistelumenetelmän tukemasta multipleksoinnista.

Sarjan sisältämien reagenssien täydellinen luettelo esitetään seuraavissa taulukoissa.

## MiSeqDx-reagenssisarja v3, laatikko 1

Taulukko 1 Laatikko 1 Monistuksen jälkeiset reagenssit

Osa	Määrä	Täyttötilavuus	Aktiiviset ainesosat	Säilytys
Kirjaston laimennuspuskuri	1 putki	4,5 ml	Puskuroitu vesiliuos	-25...-15 °C
MiSeqDx-reagenssin v3 kasetti (RFID-merkitty)	1 kutakin	Vaihtelee	Kertakäyttöinen valmiiksi täytetty kasetti	-25...-15 °C

## MiSeqDx-reagenssisarja v3, laatikko 2

Taulukko 2 Laatikko 2 Monistuksen jälkeiset reagenssit

Osa	Määrä	Täyttötilavuus	Aktiiviset ainesosat	Säilytys
MiSeqDx SBS -liuos (PR2) (RFID-merkitty)	1 pullo	500 ml	Puskuroitu vesiliuos	2–8 °C
MiSeqDx-virtauskyvetti (RFID-merkitty)	1 kutakin	–	Kertakäyttöinen parillisen pään lasinen virtauskyvetti puskuroidussa vesiliuoksessa	2–8 °C

## Säilytys ja käsittely

- Huoneen lämpötilan määritelmänä on 15–30 °C.

- Seuraavat reagenssit toimitetaan pakastettuina, ja ne ovat stabiileja -25...-15 °C:n lämpötilassa säilytettyinä ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka.
  - Kirjaston laimennuspuskuri
  - MiSeqDx v3 -reagenssikasetti

**HUOMAUTUS:** Kirjaston laimennuspuskuri ja MiSeqDx v3 -reagenssikasetti ovat stabiileja enintään yhden huoneenlämpöön sulatuksen verran ennen ilmoitettua viimeistä käyttöpäivää. Kun reagenssikasetti on sulatettu, se täytyy ladata näytekirjaston kanssa ja ajaa välittömästi MiSeqDx-laitteessa. Vaihtoehtoisesti sulatettua reagenssikasettia voidaan säilyttää 2–8 °C:n lämpötilassa 6 tuntia, minkä jälkeen se täytyy ladata näytekirjaston kanssa ja ajaa välittömästi MiSeqDx-laitteessa.

- Seuraavat reagenssit toimitetaan jäähdytettynä, ja ne ovat stabiileja 2–8 °C:n lämpötilassa säilytettyinä ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään saakka.
  - MiSeqDx SBS -liuos (PR2)
  - MiSeqDx-virtauskyvettiMiSeqDx SBS -liuos (PR2) ja MiSeqDx-virtauskyvetti ovat vain kertakäyttöisiä.
- Reagenssien fyysisen ulkoasun muutos voi olla osoitus materiaalien huononemisesta. Jos ilmenee fyysisen ulkoasun muutoksia, kuten reagenssin värin ilmiselviä muutoksia tai mikrobikontaminaatiolle ominaista sakkaisuutta, älä käytä reagensseja.

## Tarvittavat, erikseen myytävät välineet ja materiaalit

- **MiseqDx-laite**, luettelonro DX-410-1001

## Varoitukset ja varotoimet



### HUOMIO

USA:n liittovaltion laki rajoittaa tämän laitteen myyntiä niin, että sen saa myydä vain lääkäri tai muu terveydenhoidon ammattilainen, jolla on kyseisen osavaltion luvat ammatin harjoittamiseen. Sama koskee laitteen käyttöä tai sen määräämistä käyttöön.



## VAROITUS

**Tämä reagenssisarja sisältää mahdollisesti vaarallisia kemikaaleja. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä altistumisriskiä vastaavia henkilönsuojaimia, kuten silmiensuojaimia, suojakäsineitä ja laboratoriotakkia. Käsittele käytettyjä reagensseja kemiallisena jätteenä ja hävitä ne sovellettavien alueellisten, kansallisten ja paikallisten lakien ja säädösten mukaisesti. Katso ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia lisätietoja käyttöturvallisuustiedotteesta (KTT) osoitteessa [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).**

(Katso lisätietoja kohdasta Reagenssit sivulla 1.)

- Jos annettuja ohjeita ei noudateta, tuloksena voi olla virheellisiä tuloksia tai näytteiden laadun merkittävä heikentyminen.
- Noudata normaaleja laboratoriotyön varotoimia. Älä pipetoi suun avulla. Älä syö, juo tai tupakoi työhön varatuilla alueilla. Käytä kertakäyttöisiä hansikkaita ja laboratoriotakkeja, kun käsittelet näytteitä tai määritysreagensseja. Pese kädet huolellisesti näytteiden ja koereagenssien käsittelyn jälkeen.
- On noudatettava asianmukaisia laboratoriotyön käytänteitä ja hyvää laboratoriotyön hygieniää, jotta reagenssit, instrumentit ja DNA-genominäytteet eivät kontaminoituisi. PCR-kontaminaatio voi aiheuttaa epätarkkoja ja epäluotettavia tuloksia.
- Jotta kontaminoituminen voidaan välttää, varmista, että monistusta edeltävän ja sen jälkeisen työn alueilla on omat laitteet ja varusteet (esimerkiksi pipetit, pipettikärjet, vorteksilaite ja sentrifugi).
- Indeksien ja näytteen parinmuodostuksen tulee vastata täsmälleen tulostetun alustan asettelua. Local Run Manager täyttää näytteiden nimiin liitetyt indeksialukkeet automaattisesti näytteen nimillä moduuliin lisättäessä. Tarkista näytteisiin liitetyt indeksialukkeet ennen sekvensointiajon aloittamista. Tulostetun alustan asettelun ja näytteen väliset yhteensopimattomuudet johtavat positiivisen näytteen tunnistuksen menetykseen ja virheellisen tuloksen raportointiin.
- Kaikki tähän tuotteeseen liittyvät vakavat onnettomuudet on välittömästi ilmoitettava Illuminalle ja toimivaltaiselle viranomaiselle siinä jäsenvaltiossa, jossa käyttäjä ja/tai potilas on kirjoilla.

# Käyttöohjeet

Tutustu aluekohtaiseen ja käytössä olevan ohjelmistoversion mukaiseen MiSeqDx-laitteen pakkausselosteeseen.

# Suorituskykyominaisuudet

Tutustu aluekohtaiseen ja käytössä olevan ohjelmistoversion mukaiseen MiSeqDx-laitteen pakkausselosteeseen.

## Versiohistoria

Asiakirjanumero	Päivämäärä	Muutoksen kuvaus
Asiakirjanumero 100000030849 v04	Marraskuu 2021	Viittaukset MiSeqDx-laitteen pakkausselosteeseen päivitetty. Menetelmän rajoitukset ja Varoitukset ja varotoimet päivitetty lisäselvennyksillä. Vähäisiä päivityksiä tehty yhtenäistämiseksi Illuminan dokumentaatiotyylin ja standardien kanssa.
Asiakirjanumero 100000030849 v03	Elokuu 2021	Päivitetty valtuutetun EU-edustajan osoite. Lisätty versiohistoriataulukko.

## Patentit ja tavaramerkit

Tämä asiakirja ja sen sisältö ovat Illumina, Inc:n ja sen tytäryhtiöiden ("Illumina") omaisuutta, ja ne on tarkoitettu ainoastaan Illuminan asiakkaiden sopimuskäyttöön tässä kuvattujen tuotteiden käyttöön liittyen eikä mihinkään muuhun tarkoitukseen. Tätä asiakirjaa ja sen sisältöä ei saa käyttää tai jakaa missään muussa tarkoituksessa ja/tai välittää, paljastaa tai jäljentää millään muulla tavoin ilman Illuminalta ennakkoon saatua kirjallista lupaa. Illumina ei tällä asiakirjalla luovuta mitään käyttöoikeuksia sen patenti-, tavaramerkki-, tekijänoikeus- tai tapaoikeuksien nojalla eikä vastaavien kolmansien osapuolten oikeuksien nojalla.

Tässä kuvattuja tuotteita saa käyttää vain pätevä ja asianmukaisesti koulutettu henkilökunta noudattamalla täsmällisesti tässä asiakirjassa annettuja ohjeita, jotta tuotteiden asianmukainen ja turvallinen käyttö voidaan taata. Asiakirjan sisältö on luettava ja ymmärrettävä kokonaisuudessaan ennen näiden tuotteiden käyttöä.

MIKÄLI TÄSSÄ ANNETTUJA OHJEITA EI LUETA JA TÄSMÄLLISESTI NOUDATETA, SEURAUKSENA VOI OLLA TUOTTEIDEN VAURIOITUMINEN, HENKILÖVAHINKOJA JOKO KÄYTTÄJILLE TAI MUILLE JA MUITA OMAISUUSVAHINKOJA, MINKÄ LISÄKSI TUOTTEITA MAHDOLLISETI KOSKEVAT TAKUUT MITÄTÖITYVÄT.

ILLUMINA EI OLE VASTUUSSA TÄSSÄ KUVATTUJEN TUOTTEIDEN VÄÄRINKÄYTTÖSTÄ (MUKAAN LUKIEN TUOTTEEN OSAT JA OHJELMISTO).

© 2021 Illumina, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

Kaikki tavaramerkit ovat Illumina, Inc:n tai niiden vastaavien omistajien omaisuutta. Tarkemmat tavaramerkkitiedot annetaan osoitteessa [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

# Yhteystiedot



Illumina

5200 Illumina Way

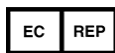
San Diego, California 92122 U.S.A.

+1 800 809.ILMN (4566)

+1 858 202 4566 (Pohjois-Amerikan ulkopuolella)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

Alankomaat

## Rahoittaja Australiassa

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Australia

# Tuotteiden merkinnät

Katso tuotteen pakkauksessa ja merkinnöissä käytettyjen symbolien selitykset osoitteesta [support.illumina.com](http://support.illumina.com).