

MiSeq™ Dx Reagent Kit v3

TIKAI IN VITRO DIAGNOSTIKAS NOLŪKIEM

Paredzētais lietojums

Illumina Reagent Kit v3 ir reaģentu un palīgmateriālu komplekts, kas paredzēts paraugu bibliotēku sekvencēšanai, ja to izmanto kopā ar apstiprinātām analīzēm. MiSeqDx Reagent Kit v3 ir paredzēts lietošanai ar MiSeqDx instrumentu un analītisko programmatūru.

Procedūras principi

Ievadei MiSeqDx Reagent Kit v3 izmanto bibliotēkas, kas sagatavotas no DNS, kur mērķiem tiek pievienoti paraugu rādītāji un uztvertās sekvenču. Paraugu bibliotēkas tiek uztvertas plūsmas elementā un sekvencētas instrumentā, izmantojot sekvencēšanu ar sintēzes (SBS) ķīmiju. SBS ķīmijā tiek izmantota atgriezeniska terminatora metode, lai noteiktu fluorescējoši iezīmētas atsevišķas nukleotīdu bāzes, jo tās ir iekļautas augošās DNS virknēs.

Norādījumus, kā veikt MiSeqDx instrumenta sekvencēšanu, skatiet instrumenta pakotnes ieliktnī atbilstoši savam reģionam un instrumenta programmatūras versijai.

Procedūras ierobežojumi

- Tikai *in vitro* diagnostikas nolūkiem.
- Šajā pakotnes ieliktnī aprakstītie ierobežojumi ir balstīti uz reprezentatīviem testiem un programmatūras moduļiem, ieskaitot Local Run Manager Germline Variant un Somatic Variant moduļus, kas ir izstrādāti, lai novērtētu veiktspēju ar reprezentatīviem testiem.
- Lasījumi, kas satur insercijas, delēcijas vai to kombinācijas (indelus).
Analīzes programmatūra nesalāgo saturu, kura garums pārsniedz 25 bp. Rezultātā indeli, kuru garums > 25 bp, ar analīzes programmatūru nav konstatējami.
- Sistēma ir apstiprināta atsevišķu nukleotīdu variantu (SNV) konstatēšanai un līdz 25 bp delēciju un 24 bp inserciju konstatēšanai, ja to izmanto kopā ar dzimumšūnas līnijas un somatisko variantu moduļu programmatūru. Somatiskās noteikšanas laikā ar variantu biežumu 0,05 tika konstatētas 25 bp delēcijas un 18 bp insercijas.

- Analīzes programmatūra var neizvietot amplikonu lasījumus ar ekstrēmu variantu saturu, tādējādi reģions var tikt ziņots kā savvaļas tips. Šādā galējā saturā ietilpst:
 - lasījumi, kas satur vairāk nekā trīs indelus;
 - lasījumi, kuru garums ir vismaz 30 bp, ar SNV saturu > 4% no kopējā amplikona mērķa garuma (izņemot zondes reģionus);
 - lasījumi, kuru garums ir < 30 bp, ar SNV saturu > 10% no kopējā amplikona garuma (ieskaitot zondes reģionus).
- Lieli varianti, ieskaitot multinukleotīdu variantus (MNV) un lielus indelus, izvades VCF failā var tikt ziņoti kā atsevišķi mazāki varianti.
- Gadījumos, kad ir aptverti divi pārklājušies amplikoni, delēciju varianti var tikt izfiltrēti vai izlaisti, ja delēcijas garums ir lielāks par vai vienāds ar pārklājumu starp pārklātajiem amplikoniem.
- Sistēma nevar konstatēt indelus, ja tie notiek tieši blakus praimerim un ja nav pārklājoša amplikona. Reģioniem, kuros amplikoni pārklājas, analīze nevar konstatēt delēcijas, ja pārklāšanās reģions ir mazāks par konstatējamās delēcijas lielumu. Piemēram, ja pārklāšanās reģions starp diviem blakus esošiem amplikoniem ir divas bāzes, analīze nevar konstatēt delēcijas, kas ietver šīs abas bāzes. Ir iespējams konstatēt vienu bāzes delēciju jebkurā no šīm bāzēm.
- Tāpat kā jebkurai uz hibridizāciju balstītai bibliotēku sagatavošanas darbplūsmā zondējamās alēles un attiecīgi arī sekvencēšanas laikā veikto noteikšanu var ietekmēt pamatā esoši polimorfismi, mutācijas, insercijas vai delēcijas oligonukleotīdus saistošajos reģionos. Tālāk sniegti piemēri.
 - Variants fāzē ar variantu praimera reģionā var netikt amplificēts, tādējādi tiek iegūts kļūdaini negatīvs rezultāts.
 - Varianti praimera reģionā var traucēt atsauces alēles amplifikāciju, tādējādi izraisot nepareizu homozigotiska varianta noteikšanu.
 - Indelu varianti praimera reģionā var izraisīt kļūdaini pozitīvu noteikšanu lasījuma beigās blakus praimerim.
- Indelus var filtrēt virkņu novirzes dēļ, ja tie rodas tuvu viena lasījuma beigām un ja tiem veikta daļēja salāgošana, nedzēšot nesalāgoto daļu.
- Nelieli MNV nav apstiprināti, un par tiem tiek ziņots tikai somatisko variantu modulī.
- Par delēcijām tiek ziņots VCF failā pie iepriekšējās bāzes koordinātas atkarībā no VCF formāta. Tāpēc izvērtējiet blakus esošos variantus, pirms ziņojat, ka atsevišķa bāze ir noteikta kā homozigotiska atsauce.
- Dzimumšūnas līnijas ierobežojumi:
 - MiSeqDx instruments, izmantojot Local Run Manager dzimumšūnas līnijas variantu moduli, ir paredzēts, lai nodrošinātu kvalitatīvus dzimumšūnas līnijas variantu (piemēram, homozigotisku, heterozigotiskus, savvaļas tipa) noteikšanas rezultātus.

- Lietojot kopā ar dzimumšūnas līnijas variantu moduli, minimālais segums uz amplikonu, kas nepieciešams precīzai variantu noteikšanai, ir 150x. Rezultātā ir nepieciešami 150 atbalstoši DNS fragmenti, kas ir ekvivalenti 300 pārklājošiem gala pāru lasījumiem. Paraugu skaits un kopējais mērķa bāzu skaits ietekmē segumu. GC saturs un cits genomiskais saturs var ietekmēt segumu.
- Kopiju skaita variācijas var ietekmēt to, vai variants tiek identificēts kā homozigotisks vai heterozigotisks.
- Varianti noteiktā atkārtotā kontekstā tiek izfiltrēti no VCF failiem. Tiek izmantots RMxN atkārtojumu filtrs, lai filtrētu variantus, ja visa varianta vai tā daļas sekvenca atkārtoti parādās atsaucēs genomā blakus varianta pozīcijai. Dzimumšūnas līnijas variantu noteikšanā ir nepieciešami vismaz deviņi atkārtojumi atsaucē, lai variants tiktu izfiltrēts, un tiek ņemti vērā tikai tie atkārtojumi, kuru garums nepārsniedz 5 bp (R5x9).
- Somatiskie ierobežojumi:
 - MiSeqDx instruments, izmantojot Local Run Manager somatisko variantu moduli, ir paredzēts, lai nodrošinātu kvalitatīvus somatisko variantu (piemēram, tāda somatiskā varianta klātbūtne, kura varianta biežums ir $\geq 0,026$ ar noteikšanas robežu 0,05) noteikšanas rezultātus.
 - Lietojot kopā ar somatisko variantu moduli, minimālais segums uz amplikonu, kas nepieciešams precīzai variantu noteikšanai, ir 450x uz oligonukleotīdu kopu. Rezultātā ir nepieciešami 450 atbalstoši DNS fragmenti uz oligonukleotīdu kopu, kas ir ekvivalenti 900 pārklājošiem gala pāru lasījumiem. Paraugu skaits un kopējais mērķa bāzu skaits ietekmē segumu. GC saturs un cits genomiskais saturs var ietekmēt segumu.
 - Somatisko variantu noteikšanā ir nepieciešami vismaz seši atkārtojumi atsaucē, lai variants tiktu izfiltrēts, un tiek ņemti vērā tikai tie atkārtojumi, kuru garums nepārsniedz 3 bp (R3x6).
 - Somatisko variantu modulis nevar noteikt atšķirību starp dzimumšūnas līnijas un somatiskajiem variantiem. Modulis ir paredzēts, lai konstatētu variantus dažāda variantu biežuma diapazonā, bet variantu biežumu nevar izmantot, lai noteiktu atšķirību starp dzimumšūnas līnijas un somatiskajiem variantiem.
 - Normāli audi paraugā ietekmē variantu konstatēšanu. Ziņotā noteikšanas robeža balstās uz variantu biežumu attiecībā pret kopējo DNS, kas ekstrahēta gan no audzēja, gan no normāliem audiem.

Izstrādājumu komponenti

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3, kataloga nr. 20037124, sastāvs:

- bibliotēkas atšķaidīšanas buferis, plūsmas elements un pēcamplifikācijas reaģenti

Nodrošinātie reaģenti

illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 ir vienreizlietojams reaģentu un palīgmateriālu komplekts, kas paredzēts vienas vai vairāku paraugu bibliotēku viena cikla sekvencēšanai, izmantojot MiSeqDx instrumentu. Paraugu bibliotēku skaits ir atkarīgs no multipleksēšanas, ko atbalsta augšupstraumes bibliotēkas sagatavošanas metode.

Pilnu šajā komplektā iekļauto reaģentu sarakstu skatiet tabulās.

MiSeqDx Reagent Kit v3, 1. kaste

1. tabula 1. kastes pēcamplifikācijas reaģenti

Sastāvdaļa	Daudzums	Uzpildes tilpums	Aktīvās sastāvdaļas	Glabāšana
Bibliotēkas atšķaidīšanas buferšķīdums	1 mēģene	4,5 ml	Buferēts ūdens šķīdums	No -25 °C līdz -15 °C
MiSeqDx Reagent v3 kasetne (ar RFID marķējumu)	1 katram	Dažādi	Vienreizlietojama kasetne	No -25 °C līdz -15 °C

MiSeqDx Reagent Kit v3, 2. kaste

2. tabula 2. kastes pēcamplifikācijas reaģenti

Sastāvdaļa	Daudzums	Uzpildes tilpums	Aktīvās sastāvdaļas	Glabāšana
MiSeqDx SBS Solution (PR2) (ar RFID marķējumu)	1 pudele	500 ml	Buferēts ūdens šķīdums	No 2 °C līdz 8 °C
MiSeqDx plūsmas elements (ar RFID marķējumu)	1 katram	Nav	Vienreiz lietojams sapārotu galu stikla plūsmas elements buferētā ūdens šķīdumā	No 2 °C līdz 8 °C

Uzglabāšana un izmantošana

- Istabas temperatūra tiek definēta no 15 °C līdz 30 °C.
- Tālāk minētie reaģenti tiek piegādāti sasaldēti un ir stabili, ja tos uzglabā no -25 °C līdz -15 °C temperatūrā līdz norādītā derīguma termiņa beigām.
 - Bibliotēkas atšķaidīšanas buferšķīdums
 - MiSeqDx Reagent v3 kasetne

PIEZĪME Bibliotēkas atšķaidīšanas buferis un MiSeqDx Reagent v3 kasetne ir vienreizlietojami un ir stabili ne vairāk kā vienu atkausēšanas reizi līdz istabas temperatūrai pirms noteiktā derīguma termiņa beigām. Pēc atkausēšanas reaģenta kasetne ir jāievieto kopā ar paraugu bibliotēku, un nekavējoties jāizpilda cikls MiSeqDx instrumentā. Alternatīvi atkausēto reaģenta kasetni var turēt no 2 °C līdz 8 °C temperatūrā līdz 6 stundām, pēc tam ievietot kopā ar paraugu bibliotēku un nekavējoties izpildīt ciklu MiSeqDx instrumentā.

- Tālāk minētie reaģenti tiek piegādāti atdzesēti un ir stabili, ja tos uzglabā no 2 °C līdz 8 °C temperatūrā līdz norādītā derīguma termiņa beigām.
 - MiSeqDx SBS Solution (PR2)
 - MiSeqDx plūsmas elementsMiSeqDx SBS Solution (PR2) un MiSeqDx plūsmas elements ir vienreizlietojami.
- Reaģentu fiziskas izskata izmaiņas var norādīt uz materiālu bojājumu. Nelietojiet reaģentus, ja notiek fiziskas izskata izmaiņas (piemēram, acīmredzamas reaģentu krāsas izmaiņas vai saskatāms mikrobu piesārņojuma duļķainums).

Nepieciešamais aprīkojums un materiāli tiek pārdoti atsevišķi

- **MiseqDx instruments**, kataloga nr. DX-410-1001

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi



UZMANĪBU!

Federālie likumi ierobežo šīs ierīces tirdzniecību ārstam vai kas tiek veikta ārsta vai cita ar prakses vietas štata likumiem licencēta speciālista uzdevumā, lietošanu vai ierīces lietošanas pieprasīšanu.



BRĪDINĀJUMS

Šajā reaģentu komplektā ir potenciāli bīstamas ķīmiskās vielas. Ieelpojot, norijot, saskaroties ar ādu un saskaroties ar acīm, iespējams gūt traumas. Valkājiet aizsardzības līdzekļus, tostarp acu aizsargus, cimdus un laboratorijas uzsvārci, kas atbilst ietekmes riskam. Apejieties ar lietotiem reaģentiem kā ar ķīmiskiem atkritumiem un atbrīvojieties no tiem saskaņā ar piemērojamiem reģionālajiem, valsts un vietējiem likumiem un noteikumiem. Plašāku informāciju par vidi, veselību un drošību skatiet drošības datu lapās (SDS) vietnē support.illumina.com/sds.html.

(Papildinformāciju skatiet sadaļā Reaģenti 1. lpp.)

- Neievērojot aprakstītās procedūras, rezultāti var būt kļūdaini vai var ievērojami pasliktināties parauga kvalitāte.
- Ievērojiet parastos laboratorijas piesardzības pasākumus. Nelietojiet pipeti, izmantojot muti. Neēdiet, nedzeriet un nesmēķējiet noteiktās darba zonās. Rīkojoties ar paraugiem un analīžu reaģentiem, valkājiet vienreizlietojamus cimdus un laboratorijas uzsvārcus. Pēc paraugu un analīžu reaģentu izmantošanas rūpīgi nomazgājiet rokas.
- Ir nepieciešama pienācīga laboratorijas prakse un laba laboratorijas higiēna, lai PĶR produkti nepiesārņotu reaģentus, instrumentus un genoma DNS paraugus. PĶR piesārņojums var izraisīt kļūdainus un neuzticamus rezultātus.
- Lai novērstu piesārņojumu, pārlicinieties, ka pirmsamplifikācijas un pēcamplifikācijas zonās ir nepieciešamais aprīkojums (piemēram, pipetes, pipetes uzgaļi, maisītājs un centrifūga).
- Rādītāju un paraugu pāriem ir precīzi jāatbilst drukātajam plates izkārtojuma. Pēc ievadīšanas modulī Local Run Manager automātiski aizpilda ar paraugu nosaukumiem saistītos rādītāju praimerus. Pirms sekvencēšanas cikla pārbaudiet rādītāju praimeru saistību ar paraugiem. Ja starp drukāto plates izkārtojumu un paraugu pastāv nesakrītība, tiek zaudēta pozitīvo paraugu identifikācija un ziņoti nepareizi rezultāti.
- Nekavējoties ziņojiet uzņēmumam Illumina un tās dalībvalsts kompetentajai iestādei, kurā lietotājs un/vai pacients ir reģistrēts.

Lietošanas instrukcija

Skatiet MiSeqDx instrumenta pakotnes ieliktni atbilstoši savam reģionam un instrumenta programmatūras versijai.

Veiktspējas raksturlielumi

Skatiet MiSeqDx instrumenta pakotnes ieliktni atbilstoši savam reģionam un instrumenta programmatūras versijai.

Pārskatījumu vēsture

Dokuments Nr.	Datums	Izmaiņu apraksts
Dokuments Nr. 1000000030849 v04	2021. gada novembris	Atjauninātas MiSeqDx instrumenta pakotnes ieliktna atsauces. Atjaunināti procedūras ierobežojumi un brīdinājumi un piesardzības pasākumi ar papildu precizējumiem. Nelieli atjauninājumi, lai atbilstu Illumina dokumentēšanas stilam un standartiem.
Dokuments Nr. 1000000030849 v03	Augusts 2021. gads	Atjaunināta ES pilnvarotā pārstāvja adrese. Pievienota redakciju vēstures tabula.

Patenti un preču zīmes

Šī dokumenta un tā saturs īpašumtiesības pieder uzņēmumam Illumina, Inc. un tā saistītajiem uzņēmumiem ("Illumina"), un klients to drīkst izmantot tikai līgumā noteiktajā veidā saistībā ar šajā dokumentā aprakstīto izstrādājumu lietošanu, un nekādiem citiem nolūkiem. Šo dokumentu un tā saturu nedrīkst izmantot vai izplatīt nekādiem citiem nolūkiem un/vai citādi publiskot, atklāt vai reproducēt jebkādā veidā bez iepriekšējas rakstiskas Illumina piekrišanas. Ar šo dokumentu Illumina nenodod nekādas licences, ko paredz tā patents, preču zīmes, autortiesības vai anglosakšu tiesības, nedz arī līdzīgas jebkuras trešās puses tiesības.

Šajā dokumentā sniegtie norādījumi ir stingri un precīzi jāievēro kvalificētiem un atbilstoši apmācītiem darbiniekiem, lai nodrošinātu šeit aprakstītā(-o) produkta(-u) pareizu un drošu lietošanu. Pirms šī izstrādājuma(-u) lietošanas ir pilnībā jāizlasa un jāizprot viss šī dokumenta saturs.

PILNĪBĀ NEIZLASOT UN PRECĪZI NEIEVĒROJOT VISUS ŠAJĀ DOKUMENTĀ IEKĻAUTOS NORĀDĪJUMUS, VAR RASTIES PRODUKTA(-U) BOJĀJUMI, PERSONU MIESAS BOJĀJUMI, TOSTARP LIETOTĀJU UN CITU PERSONU, UN CITA ĪPAŠUMA BOJĀJUMI, TURKLĀT TIKS ANULĒTAS VISAS PRODUKTAM(-IEM) PIEMĒROJAMĀS GARANTIJAS.

ILLUMINA NEUZŅEMAS NEKĀDU ATBILDĪBU, KAS IZRIET NO NEPAREIZAS ŠAJĀ DOKUMENTĀ APRAKSTĪTO PRODUKTU (TOSTARP TĀ DAĻU VAI PROGRAMMATŪRAS) LIETOŠANAS.

© 2021 Illumina, Inc. Visas tiesības paturētas.

Visas preču zīmes ir Illumina, Inc. vai to attiecīgo īpašnieku īpašums. Konkrētu informāciju par preču zīmēm skatiet vietnē www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktinformācija



Illumina

5200 Illumina Way

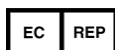
San Diego, California 92122, ASV

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (ārpus Ziemeļamerikas)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

Nīderlande

Austrālijas sponsors

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Austrālija

Produktu marķēšana

Pilnīgu atsauci uz simboliem, kas var parādīties uz produkta iepakojuma un marķējuma, skatiet simbolu atslēgā vietnē support.illumina.com.