

MiSeqDx Reagent Kit v3

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK

Katalognr. 20012552 eller 20037124: 1 kjøring

Tiltenkt bruk

Illumina MiSeqDx™ Reagent Kit v3 er et sett med reagenser og forbruksvarer beregnet for sekvensering av prøvebiblioteker når de brukes sammen med validerte analyser. MiSeqDx Reagent Kit v3 er beregnet for bruk med MiSeqDx-instrumentet og analytisk programvare.

Prosedyreprinsipper

For inndata bruker MiSeqDx Reagent Kit v3 biblioteker utarbeidet fra DNA der prøveindekser og innfangingssekvenser blir lagt til mål. Prøvebiblioteker blir fanget på en strømningscelle og sekvensert på instrumentet ved bruk av sekvensering ved syntesekjemi (SBS). SBS-kjemi bruker en reversibel terminator metode for å detektere enkle nukleotidbaser idet de blir inkorporert i voksende DNA-strenger.

Pakningsvedlegget for MiSeqDx-instrumentet (dokumentnr. 1000000021963) gir instruksjoner for utførelse av sekvensering på MiSeqDx-instrumentet.

Prosedyremessige begrensninger

- 1 Til *in vitro*-diagnostisk bruk.
- 2 Avlesninger inneholder innsetninger, slettinger eller kombinasjoner av disse (indeler).
Innhold med lengde > 25 bp innrettes ikke av analyseprogrammet. Indeler med lengde > 25 bp kan derfor ikke detekteres av analyseprogrammet.
- 3 Systemet er validert for deteksjon av enkle nukleotidvarianter (SNV) og opptil 25 bp slettinger og 24 bp innsetninger når det brukes med Germline og Somatic Variant-modulprogramvaren. For somatisk betegnelse ved en variantfrekvens på 0,05 ble 25 bp slettinger og 18 bp innsetninger detektert.
- 4 PCR-produktavlesninger med ekstremt variantinnhold kan kanskje ikke innrettes av analyseprogrammet, noe som resulterer i at regionen blir rapportert som villtype. Slikt ekstremt innhold omfatter:
 - ▶ Avlesninger som inneholder mer enn tre indeler
 - ▶ Avlesninger med lengde på minst 30 bp med SNV-innhold > 4 % av den totale PCR-produktmållengden (unntatt probeområder)
 - ▶ Avlesninger med lengde < 30 bp med SNV-innhold > 10 % av den totale PCR-produktlengden (inkludert probeområder)
- 5 Store varianter, deriblant multi-nukleotidvarianter (MNV-er) og store indeler, kan rapporteres som separate mindre varianter i utdata-VCF-filen.
- 6 Slettingsvarianter kan filtreres eller utelates når de spenner over to sidestilte PCR-produkter, dersom slettelengden er større enn eller lik overlappingen mellom de sidestilte PCR-produktene.
- 7 Systemet kan ikke oppdage indeler hvis de oppstår rett ved siden av en primer og det ikke er noe overlappende PCR-produkt. For regioner med overlappende PCR-produkter kan ikke analysen oppdage slettinger når overlappingsområdet er mindre enn størrelsen på slettingen som skal detekteres. Hvis for eksempel overlappingsområdet mellom to tilstøtende PCR-produkter er to baser, kan analysen ikke oppdage noen slettinger som inkluderer begge disse basene. En enkelt basesletting på én av disse basene kan detekteres.
- 8 Som ved alle hybridiseringsbaserte arbeidsprosesser for bibliotekklargjøring kan underliggende polymorfismer eller mutasjoner, innsetninger eller slettinger i oligonukleotidbindende områder påvirke allelene som sonderes, og derfor også betegnelse som utføres under sekvensering. Eksempel:
 - ▶ En variant i fase med en variant i primerregionen kan ikke forsterkes, noe som resulterer i en falsk negativ.

- ▶ Varianter i primerområdet kan forhindre forsterkningen av referanseallelen, noe som resulterer i feil homozygot variantbetegnelse.
 - ▶ Indelvarianter i primerregionen kan forårsake en falsk positiv betegnelse på slutten av avlesningen ved siden av primeren.
- 9 Indeler kan filtreres på grunn av strengeavvik hvis de forekommer nær enden av en avlesning og blir "soft-clipped" under innretting.
 - 10 Små MNV-er har ikke blitt validert og rapporteres kun i den somatiske variantmodulen.
 - 11 Slettinger rapporteres i VCF ved koordinaten til den foregående basen etter VCF-format; og derfor bør det vurderes tilstøtende varianter før rapportering om at en individuell basebetegnelse er homozygot referanse.
 - 12 Kimbanespesifikke begrensninger:
 - ▶ MiSeqDx-instrumentet som bruker Local Run Manager Germline-variantmodulen, er utviklet for å levere kvalitative resultater for germline-variantbetegnelser (f.eks. homozygot, heterozygot, villtype).
 - ▶ Ved bruk med Germline-variantmodulen er minimum dekning per PCR-produkt som er nødvendig for nøyaktig variantbetegnelse, 150x. Dermed kreves 150 støttende DNA-fragmenter, noe som tilsvarer 300 overlappende paired-end-avlesinger. Antallet prøver og det totale antallet baser som er målrettet, påvirker dekningen. GC-innhold og annet genomisk innhold kan påvirke dekning.
 - ▶ Variasjon i kopinumner kan påvirke om en variant identifiseres som homozygot eller heterozygot.
 - ▶ Varianter i en viss repetitiv kontekst filtreres ut i VCF-filene. RMxN-gjentakelsesfilteret brukes til å filtrere varianter dersom hele eller deler av variantsekvensen er til stede gjentatte ganger i referansegenomet ved siden av variantposisjonen. For germline-variantbetegnelse er det nødvendig med minst 9 repetisjoner i referansen for at en variant skal filtreres, og bare gjentakelser med lengde på opptil 5 bp vurderes (R5x9).
 - 13 Somatisk-spesifikke begrensninger:
 - ▶ MiSeqDx-systemet som bruker Local Run Manager somatisk variantmodul, er designet for å levere kvalitative resultater for somatisk variantbetegnelse (f.eks. tilstedeværelse av en somatisk variant med en variantfrekvens $\geq 0,026$ med en deteksjonsgrense på 0,05).
 - ▶ Ved bruk med Somatic Variant-modulen er minimum dekning per PCR-produkt som er nødvendig for nøyaktig variantbetegnelse, 450x per oligonukleotidsammenslåing. Dermed kreves 450 støttende DNA-fragmenter per oligonukleotidsammenslåing, noe som tilsvarer 900 overlappende paired-end-avlesinger. Antallet prøver og det totale antallet baser som er målrettet, påvirker dekningen. GC-innhold og annet genomisk innhold kan påvirke dekning.
 - ▶ For somatisk variantbetegnelse er det nødvendig med minst 6 repetisjoner i referansen for at varianten skal filtreres, og bare gjentakelser med lengde på opptil 3 bp vurderes (R3x6).
 - ▶ Den somatiske variantmodulen kan ikke skille mellom germline-varianter og somatiske varianter. Modulen er konstruert for å detektere varianter over en rekke variantfrekvenser, men variantfrekvens kan ikke brukes til å skille mellom somatiske varianter og kimlinjevarianter.
 - ▶ Normalt vev i prøven påvirker deteksjonen av varianter. Den rapporterte deteksjonsgrensen er basert på en variantfrekvens relativ til det totale DNA-et som ekstraheres fra både tumor og normalt vev.

Produktkomponenter

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 omfatter:

- ▶ Bibliotekfortynningsbuffer, strømningscelle og postforsterkningsreagenser

Reagenser

Reagenser som følger med

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 er et sett av reagenser og forbruksmaterialer til engangsbruk for sekvensering av én kjøring av ett eller flere prøvebiblioteker på MiSeqDx-instrumentet. Antallet prøvebiblioteker er avhengig av multipleksingen som støttes av oppstrøms biblioteksklargjøringsmetode.

Se følgende tabeller for en komplett liste over reagenser dette settet inneholder.

MiSeqDx Reagent Kit v3, boks 1

Tabell 1 Boks 1 Postforsterkningsreagenser

Komponent	Kvantitet	Fyllingsvolum	Aktive ingredienser	Oppbevaring
Bibliotekfortynningsbuffer	1 rør	4,5 ml	Bufret vandig oppløsning	-25 °C til -15 °C
MiSeqDx Reagent v3-kassett (RFID-merket)	1 hver	Diverse	Forhåndsfylt kassett til engangsbruk	-25 °C til -15 °C

MiSeqDx Reagent Kit v3, boks 2

Tabell 2 Boks 2 Postforsterkningsreagenser

Komponent	Kvantitet	Fyllingsvolum	Aktive ingredienser	Oppbevaring
MiSeqDx SBS-løsning (PR2) (RFID-merket)	1 flaske	500 ml	Bufret vannløsning	2 °C til 8 °C
MiSeqDx-strømningscelle (RFID-merket)	1 hver	N/A	Paired-end glasstrømningscelle til engangsbruk i bufret vannløsning	2 °C til 8 °C

Oppbevaring og håndtering

- Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.
- Følgende reagenser blir sendt i frossen tilstand og er stabile når de lagres ved -25 °C til -15 °C inntil den angitte utløpsdatoen.
 - ▶ Bibliotekfortynningsbuffer
 - ▶ MiSeqDx Reagent v3-kassett



MERK

Bibliotekfortynningsbufferen og MiSeqDx Reagent v3-kassetten er bare til engangsbruk og er stabile for maksimalt én opptining til romtemperatur før den angitte utløpsdatoen. Når reagenskassetten er tint, må den lastes med prøvebibliotek og kjøres umiddelbart på MiSeqDx-instrumentet. Alternativt kan den opptinte reagenskassetten oppbevares ved 2 °C til 8 °C i opptil 6 timer, for deretter å lastes med prøvebibliotek og kjøres umiddelbart på MiSeqDx-instrumentet.

- Følgende reagenser blir sendt nedkjølt og er stabile når de lagres ved 2 °C til 8 °C inntil den angitte utløpsdatoen.
 - ▶ MiSeqDx SBS-oppløsning (PR2)
 - ▶ MiSeqDx-strømningscelle
 MiSeqDx SBS-oppløsning (PR2) og MiSeqDx-strømningscelle er kun til engangsbruk.
- Endringer i reagensenes fysiske utseende kan indikere nedbryting av materialene. Hvis det forekommer endringer i det fysiske utseendet (for eksempel åpenbare endringer i reagensfarge eller uklarhet sammen med mikrobiell kontaminasjon), skal ikke reagensene brukes.

Nødvendig utstyr og materialer selges separat

- MiSeqDx-instrumentet**, katalognr. DX-410-1001

Advarsler og forholdsregler



FORSIKTIG

Føderal lov begrenser denne enheten til salg av, eller på bestilling av, en lege eller annet fagpersonell, lovmessig lisensiert i staten vedkommende praktiserer, for å bruke eller pålegge bruk av enheten.

- 1 **Enkelte komponenter i denne analysen inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter.** Hvis du ønsker ytterligere informasjon om helse, miljø og sikkerhet, kan du se mer på support.illumina.com/sds.html. (Du finner mer informasjon under *Reagenser på side 2.*)
- 2 Hvis du unnlater å følge prosedyrene som beskrevet, kan det resultere i feil resultater eller betydelig reduksjon i prøvekvaliteten.
- 3 Bruk rutinemessige forholdsregler for laboratoriet. Ikke pipetter med munnen. Ikke spis, drikk eller røyk i tilordnede arbeidsområder. Bruk engangshansker og laboratoriefrakker når du håndterer prøver og analysereagenser. Vask hendene grundig etter å ha håndtert prøvene og analysereagensene.
- 4 God laboratoriepraksis og god laboratoriehygiene er påkrevd for å hindre at PCR-produkter kontaminerer reagenser, instrumentering og genomiske DNA-prøver. PCR-kontaminasjon kan medføre unøyaktige og upålitelige resultater.
- 5 For å hindre kontaminasjon må du påse at preforsterknings- og postforsterkningsområdene har sitt eget utstyr (som dråpetellere, dråpetellerspisser, vortekser og sentrifuge).
- 6 Indeks-prøvesammenkobling må være i nøyaktig samsvar med trykt plateoppsett. Local Run Manager fyller automatisk ut indeksprimerene som er tilknyttet prøvenavnene, når de er angitt i modulen. Verifiser indeksprimerene som er assosiert med prøvene, før du starter sekvenseringskjøringen. Misforhold mellom det trykte plateoppsettet og prøven vil resultere i tap av positiv prøveidentifikasjon og feil resultatrapportering.

Bruksanvisning

Se *pakningsvedlegget for MiSeqDx-instrumentet (dokumentnr. 100000021963)*.

Ytelseskarakteristikk

Se *pakningsvedlegget for MiSeqDx-instrumentet (dokumentnr. 100000021963)*.

Patenter og varemerker

Dette dokumentet og dets innhold er opphavsrettslig beskyttet for Illumina, Inc. og tilknyttede selskaper («Illumina»), og er ment utelukkende for kontraktbruk av kunden i forbindelse med bruk av produktet (produktene) beskrevet her, og for intet annet formål. Dette dokumentet og dets innhold skal ikke brukes eller distribueres til andre formål og/eller på annen måte kommuniseres, fremlegges eller reproduseres på noen måte uten forutgående, skriftlig samtykke fra Illumina. Illumina overfører ikke noen lisens under sitt patent, varemerke, opphavsrett eller sedvanerett eller lignende rettigheter til tredjeparter gjennom dette dokumentet.

Instruksjonene i dette dokumentet skal følges strengt og tydelig av kvalifisert og tilfredsstillende utdannet personell for å sikre riktig og sikker bruk av produktet (produktene) som er beskrevet i dette dokumentet. Alt innhold i dette dokumentet skal leses fullt ut og være forstått før produktet (produktene) brukes.

HVIS DET UNNLATES Å LESE FULLSTENDIG OG UTTRYKkelig FØLGE ALLE INSTRUKSJONENE I DETTE DOKUMENTET, KAN DET FØRE TIL SKADE PÅ PRODUKTET (PRODUKTENE), SKADE PÅ PERSONER, INKLUDERT BRUKERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANNEN EIENDOM, OG DETTE VIL UGYLDIGGJØRE EVENTUELL GARANTI SOM GJELDER FOR PRODUKTET (PRODUKTENE).

ILLUMINA PÅTAR SEG IKKE ANSVAR SOM FØLGE AV FEIL BRUK AV PRODUKTET (PRODUKTENE) SOM ER BESKREVET I DETTE DOKUMENTET (INKLUDERT DELER AV DETTE ELLER PROGRAMVARE).

© 2020 Illumina, Inc. Med enerett.

Illumina, MiSeqDx og streamingbase-designen er registrerte eller ventende varemerker som tilhører Illumina, Inc. og/eller tilknyttede selskaper i USA og/eller andre land. Alle andre navn, logoer og andre varemerker tilhører deres respektive eiere.

Kontaktinformasjon



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California, 92122 USA
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (utenfor Nord-Amerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE Eindhoven
Nederland

Australsk sponsor

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

Produktmerking

Ønsker du en fullstendig oversikt over symboler som kan finnes på produktemballasjen og -merkingen, kan du gå til support.illumina.com og lese under fanen *Documentation and Literature* (Dokumentasjon og litteratur) for settet.