

Набір реагентів MiSeq™Dx Reagent Kit v3

ВИКОРИСТОВУВАТИ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO

Передбачене використання

Набір реагентів Illumina Набір реагентів MiSeqDx Reagent Kit v3 — це комплект реагентів і витратних матеріалів, призначених для секвенування бібліотек зразків у разі використання з валідованими аналізами. Набір реагентів MiSeqDx Reagent Kit v3 призначено для використання з приладом й аналітичним програмним забезпеченням MiSeqDx.

Принципи проведення процедури

Для введення в набір реагентів MiSeqDx Reagent Kit v3 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 завдяки синтезу (SBS). У хімічній реакції SBS використовується метод оборотних термінаторів для виявлення флуоресцентно-мічених однонуклеотидних основ, тому що їх включено в нитки ДНК, які зростають.

Інструкції із секвенування на приладі MiSeqDx див. в документі «Інструкція з використання приладу MiSeqDx» для свого регіону й відповідно до версії програмного забезпечення приладу.

Обмеження процедури

- Використовувати для діагностики *in vitro*.
- Обмеження, описані в цій Інструкції з використання, базуються на репрезентативних аналізах і модулях програмного забезпечення, зокрема модулях Germline Variant Module (Модуль варіантів зародкової лінії) і Somatic Variant Module (Модуль соматичних варіантів) програмного забезпечення Local Run Manager, які було розроблено для оцінювання ефективності з репрезентативними аналізами.
- Зчитування, що містять інсерції, делеції або їхні комбінації (індели).
Вміст завдовжки > 25 п. о. програмним забезпеченням аналізу не вирівнюється. Отже, програмне забезпечення аналізу не виявляє індели завдовжки > 25 пар основ (п. о.).

- Систему було валідовано на виявлення однонуклеотидних варіантів (single nucleotide variants, SNV), делецій до 25 п. о. та інсерцій до 24 п. о. у разі використання з програмним забезпеченням модулів Germline Variant і Somatic Variant. Для соматичних розпізнавань з варіантною частотою 0,05 було виявлено делеції завдовжки 25 п. о. та інсерції завдовжки 18 п. о.
- Програмне забезпечення аналізу може не вирівнювати зчитування ампліконів з украй високим вмістом варіантів, через що відповідна ділянка буде визначена як дикий тип. Такий украй високий вміст передбачає наведене нижче.
 - Зчитування, що містять понад три індели.
 - Зчитування завдовжки щонайменше 30 п. о. із вмістом SNV > 4 % загальної цільової довжини ампліконів (за винятком ділянок зондів).
 - Зчитування завдовжки < 30 п. о. із вмістом SNV > 10 % загальної довжини ампліконів (включно з ділянками зондів).
- Великі варіанти, зокрема багатонуклеотидні варіанти (multi-nucleotide variants, MNV) і великі інсерції/делеції, можуть бути визначені як окремі менші варіанти у вихідному файлі VCF.
- Варіанти делецій можна фільтрувати або пропускати під час стягування двох сегментованих ампліконів, якщо довжина делеції дорівнює перекриттю між сегментованими ампліконами або більша.
- Система не здатна виявляти індели, коли вони виникають прямо поряд з праймером, а амплікона з перекриттям немає. 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.
- Як і в разі 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 піддаватись ампліфікації, що призводить до хибнонегативних результатів.
 - Варіанти в ділянці праймера можуть заважати ампліфікації референсного алелю, що призводить до неправильного розпізнавання гомозиготного варіанта.
 - Варіанти інделів у ділянці праймера можуть призводити до хибнопозитивного розпізнавання в кінці зчитування біля праймера.
- Індели можна фільтрувати завдяки викривленню нитки, якщо вони виникають поруч з кінцем одного зчитування й піддаються м'якому усіченню під час вирівнювання.
- Малі MNV валідацію не проходили, і про них повідомляється лише в модулі Somatic Variant Module (Модуль соматичних варіантів).

- 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.
- Обмеження, що стосуються зародкової лінії.
 - Прилад MiSeqDx, у якому використовується модуль Germline Variant Module (Модуль варіантів зародкової лінії) програмного забезпечення Local Run Manager, призначений для отримання якісних результатів розпізнавання варіантів зародкової лінії (наприклад, гомозиготних, гетерозиготних, дикого типу).
 - Коли використовується модуль Germline Variant Module (Модуль варіантів зародкової лінії), мінімальне покриття на амплікон, потрібне для точного розпізнавання варіантів, становить 150x. Зрештою потрібно 150 допоміжних фрагментів ДНК, що дорівнює 300 парним зчитуванням, які перекриваються. На покриття впливають кількість зразків і загальна кількість цільових основ. На покриття може впливати вміст GC й інший геномний вміст.
 - 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 RMxN, якщо вся послідовність варіанта або її частина повторно присутня в референсному геномі, суміжному з позицією варіанта. Для розпізнавання варіантів зародкової лінії в референсному геномі потрібно принаймні дев'ять повторів, щоб варіант було відфільтровано. До уваги беруться лише повтори завдовжки до 5 п. о. (R5x9).
- Обмеження, що стосуються соматичних варіантів.
 - Прилад MiSeqDx, у якому використовується модуль Somatic Variant Module (Модуль соматичних варіантів) програмного забезпечення Local Run Manager, призначений для отримання якісних результатів розпізнавання соматичних варіантів (тобто наявність соматичного варіанту з варіантною частотою $\geq 0,026$ з межею виявлення 0,05).
 - Коли використовується модуль Somatic Variant Module (Модуль соматичних варіантів), мінімальне покриття на амплікон, потрібне для точного розпізнавання варіантів, становить 450x на пул олігонуклеотидів. Зрештою потрібно 450 допоміжних фрагментів ДНК на пул олігонуклеотидів, що дорівнює 900 парним зчитуванням, які перекриваються. На покриття впливають кількість зразків і загальна кількість цільових основ. На покриття може впливати вміст GC й інший геномний вміст.
 - Для розпізнавання соматичних варіантів у референсному геномі потрібно принаймні шість повторів, щоб варіант було відфільтровано. До уваги беруться лише повтори завдовжки до 3 п. о. (R3x6).
 - Somatic Variant Module (Модуль соматичних варіантів) не здатен відрізнити варіанти зародкової лінії від соматичних варіантів. Модуль призначений для виявлення варіантів у межах діапазону частот варіантів, але частота варіанта не може використовуватися для диференціації соматичних варіантів від варіантів зародкової лінії.

- Нормальна тканина в зразку впливає на виявлення варіантів. Зареєстрована межа виявлення базується на частоті варіанта щодо загальної ДНК, екстрагованої як з пухлини, так і з нормальної тканини.

Компоненти виробу

Набір реагентів Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3, номер за каталогом 20037124, містить наведені далі компоненти.

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

Реагенти, що є в комплекті

Набір реагентів Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 — 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, наявних у цьому наборі.

Набір реагентів MiSeqDx Reagent Kit v3, 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 °C до -15 °C
Картридж з реагентами MiSeqDx Reagent v3 Cartridge (з маркуванням RFID)	1 кожного	Різне	Одноразовий попередньо заповнений картридж	Від -25 °C до -15 °C

Набір реагентів MiSeqDx Reagent Kit v3, 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 °C 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 °C до 8 °C

Зберігання й поводження

- Кімнатною температурою вважається температура від 15 °C до 30 °C.
- Указані нижче реагенти постачаються замороженими та є стабільними за умови зберігання за температури від -25 до -15 °C до зазначеної дати завершення терміну придатності.
 - Буфер для розведення бібліотеки.
 - Картридж з реагентами MiSeqDx Reagent v3 Cartridge.

ПРИМІТКА

Буфер для розведення бібліотеки й картридж з реагентами MiSeqDx Reagent v3 Cartridge призначені лише для одноразового використання та є стабільними протягом щонайбільше одного розморожування до кімнатної температури до настання дати завершення терміну придатності. Після розморожування картридж з реагентами слід завантажити разом з бібліотекою зразків і негайно прогнати на приладі MiSeqDx. Розморожений картридж з реагентами також можна зберігати за температури від 2 до 8 °C протягом 6 годин, а потім завантажити разом з бібліотекою зразків і негайно прогнати на приладі MiSeqDx.

- Указані нижче реагенти постачаються охолодженими 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.

- 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

- Прилад MiseqDx, номер за каталогом: DX-410-1001.

Застереження



ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Федеральний закон дозволяє продаж цього виробу лише за призначенням або на замовлення 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.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Цей набір реагентів містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема захист очей, рукавички та лабораторний одяг, з огляду на ризик впливу. Поводьтеся з використаними реагентами як з хімічними відходами й утилізуйте їх відповідно до застосовних регіональних, державних і місцевих законів і нормативних правил. Щоб отримати додаткову інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції (safety data sheet, SDS) на сайті support.illumina.com/sds.html.

(Докладніше див. в розділі «Реагенти» на стор. 1.)

- Недотримання викладених процедур може призвести до неправильних результатів або значного погіршення якості зразка.

- Використовуйте стандартні заходи застереження, прийняті в лабораторії. Не використовуйте піпетування ротом. Не вживайте їжу або напої й 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.
- Належні правила поведження й гігієна 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 неправильних і ненадійних результатів.
- Щоб попередити забруднення, виділіть для зон преампліфікації та постампліфікації спеціальне обладнання (як-от піпетки, наконечники піпеток, вихрову мішалку й центрифугу).
- Парування індексів і зразків має точно відповідати друкованій структурі пластини. Під час уведення 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.
- Негайно повідомляйте про всі серйозні інциденти, пов'язані із цим виробом, у компанію Illumina й компетентну установу держави, у якій перебувають користувач і/або пацієнт.

Інструкції з використання

Див. Інструкцію з використання приладу MiSeqDx для свого регіону й керуйтеся версією програмного забезпечення приладу.

Технічні характеристики

Див. Інструкцію з використання приладу MiSeqDx для свого регіону й керуйтеся версією програмного забезпечення приладу.

Історія редакцій

Номер документа	Дата	Опис змінення
Номер документа 1000000030849, версія 04	Листопад 2021 р.	Оновлено посилання на Інструкцію з використання приладу MiSeqDx. Оновлено розділи «Обмеження процедури» й «Застереження» з додатковими поясненнями. Незначні оновлення для приведення відповідно до стилю й стандартів документації Illumina.
Номер документа 1000000030849, версія 03	Серпень 2021 р.	Оновлено адресу уповноваженого представника в Європейському Союзі. Додано таблицю з історією редакцій.

Патенти й товарні знаки

Цей документ і його зміст є власністю компанії Illumina, Inc. і її філій (надалі — Illumina); він призначений лише 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 так або в інший спосіб 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 належно 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 застережено.

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