

# Комплект с реагенти MiSeq™ Dx v3

ЗА ИНВИТРО ДИАГНОСТИЧНА УПОТРЕБА

## Предназначение

Комплектът с реагенти MiSeqDx v3 на Illumina е набор от реагенти и консумативи, предназначени за секвениране на библиотеки с проби, когато се използва с валидирани анализи. Комплектът с реагенти MiSeqDx v3 е предназначен за използване с инструмента MiSeqDx и аналитичен софтуер.

## Принципи на процедурата

За входни данни комплектът с реагенти MiSeqDx v3 използва библиотеки, приготвени от ДНК, където индексите за проби и секвенциите за заснемане се добавят към целите. Библиотеките с проби се заснемат върху поточна клетка и се секвенират на инструмента, като се използва секвениране чрез синтезна (SBS) химия. SBS химията използва обратим метод за прекратяване на удължаването за откриване на белязани флуоресцентно единични нуклеотидни бази, тъй като те са включени в нарастващи ДНК вериги.

За инструкции за извършване на секвениране на инструмента MiSeqDx вижте листовката на инструмента MiSeqDx за вашата област и версията на софтуера на инструмента.

## Ограничения на процедурата

- За *инвитро* диагностична употреба.
- Ограниченията, описани в тази листовка, се основават на представителни анализи и софтуерни модули, включително модулите за вариант на герминативна линия и за соматичен вариант на Local Run Manager, които са разработени с цел оценка на производителността с представителни анализи.
- Разчитания, съдържащи инсерции, делеции или техни комбинации (индели). Съдържание с дължина > 25 bp не се подравнява от софтуера за анализ. Следователно инделите с дължина > 25 двойки бази (bp) не могат да бъдат открити от софтуера за анализ.

- Системата е валидирана за откриване на еднонуклеотидни варианти (SNV) и до делеции с 25 bp и инсерции с 24 bp, когато се използва със софтуера за модула за вариант на герминативна линия и соматичен вариант). За соматично обозначаване при вариантна честота 0,05 бяха открити делеции с 25 bp и инсерции с 18 bp.
- Разчитането на ампликони с изключително съдържание на варианти може да не бъде подравнено от софтуера за анализ, в резултат на което регионът се отчита като див тип. Такова изключително съдържание включва:
  - разчитания, съдържащи повече от три индела,
  - разчитания с дължина най-малко 30 bp със съдържание на SNV > 4% от общата дължина на ампликона (без регионите на сондата),
  - разчитания с дължина < 30 bp със съдържание на SNV, > 10% от общата дължина на ампликона (включително регионите на сондата).
- Големи варианти, включително многонуклеотидни варианти (MNV) и големи индели, могат да бъдат докладвани като отделни по-малки варианти в изходния VCF файл.
- Вариантите на делеции могат да бъдат филтрирани или пропуснати, когато обхващат два ампликона с плочки, ако дължината на делецията е по-голяма или равна на припокриването между ампликоните с плочки.
- Системата не може да открие индели, ако се появят в непосредствена близост до праймер и няма припокриващ се ампликон. За региони с припокриващи се ампликони анализът не може да открие делеции, когато регионът на припокриване е по-малък от размера на делецията, която трябва да бъде открита. Например, ако областта на припокриване между два съседни ампликона е две бази, анализът не може да открие никакви делеции, включително и двете бази. Може да се открие делеция на една база в която и да е от тези бази.
- Както при всеки работен процес за приготвяне на библиотека, базиран на хибридизация, основните полиморфизми, мутации, инсерции или делеции в региони, свързващи олигонуклеотиди, могат да повлияят на изследваните алели и следователно обозначаванията, направени по време на секвенирането. Например:
  - Вариант във фаза с вариант в региона на праймера може да не се амплифицира, което води до фалшиво отрицателен резултат.
  - Вариантите в региона на праймера могат да предотвратят амплифицирането на референтния алел, което води до неправилно обозначаване на хомозиготен вариант.
  - Вариантите на индели в региона на праймера може да причинят фалшиво положително обозначаване в края на разчитането в съседство с праймера.
- Инделите могат да бъдат филтрирани поради отклонение на верига, ако се появят в края на едно разчитане и са изрязани по време на подравняването.
- Малките MNV не са валидирани и се отчитат само в модула за соматичен вариант.

- Делециите се отчитат във VCF в координатата на предходната база за VCF формат. Следователно помислете за прилежащи варианти, преди да отчетете, че отделно обозначаване на бази е хомозиготна референция.
- Специфични ограничения за герминативна линия:
  - Инструментът MiSeqDx, използващ модула за вариант на герминативна линия на Local Run Manager, е проектиран да осигури качествени резултати за обозначаване на вариант на герминативна линия (т.е. хомозиготен, хетерозиготен, див тип).
  - Когато се използва с модула за вариант на герминативна линия, минималното покритие на ампликон, необходимо за точното обозначаване на вариант, е 150x. В резултат на това са необходими 150 поддържащи фрагмента на ДНК, което е еквивалентно на 300 припокриващи се разчитания на сдвоени краища. Броят на пробите и общият брой целеви бази влияят върху покритието. Съдържанието на гуанин-цитозин и друго геномно съдържание могат да повлияят на покритието.
  - Варирането на броя копия може да повлияе на това дали вариантът е идентифициран като хомозиготен или хетерозиготен.
  - Вариантите в определен повтарящ се контекст се филтрират във VCF файловете. Филтърът за повторения R<sub>MxN</sub> се използва за филтриране на варианти, ако цялата или част от секвенциите на вариантите присъства многократно в референтния геном, съседен на позицията на варианта. Изискват се поне девет повторения в препратката за обозначаване на вариант на герминативна линия и се вземат предвид само повторения с дължина до 5 bp (R<sub>5x9</sub>).
- Специфични ограничения за соматичен вариант:
  - Инструментът MiSeqDx, използващ модула за соматичен вариант на Local Run Manager, е проектиран да доставя качествени резултати за обозначаване на соматични варианти (т.е. наличие на соматичен вариант с вариантна честота, която е  $\geq 0,026$  с граница на откриване 0,05).
  - Когато се използва с модула за соматичен вариант, минималното покритие на ампликон, необходимо за точното обозначаване на вариант, е 450x за олигонуклеотидно обединяване. В резултат на това са необходими 450 поддържащи фрагмента на ДНК на олигонуклеотидно обединяване, което е еквивалентно на 900 припокриващи се разчитания на сдвоени краища. Броят на пробите и общият брой целеви бази влияят върху покритието. Съдържанието на гуанин-цитозин и друго геномно съдържание могат да повлияят на покритието.
  - Изискват се поне шест повторения в препратката за обозначаване на соматичен вариант и се вземат предвид само повторения с дължина до 3 bp (R<sub>3x6</sub>).
  - Модулът за соматичен вариант не може да разграничава варианти на герминативна линия и соматични варианти. Модулът е предназначен да открива варианти в диапазон от вариантни честоти, но вариантната честота не може да се използва за разграничаване на соматичните варианти от вариантите на герминативна линия.

- Нормалната тъкан в материала за изследване влияе върху откриването на варианти. Отчетената граница за откриване се основава на вариантната честота спрямо общата ДНК, извлечена както от тумор, така и от нормална тъкан.

## Компоненти на продукта

Комплектът с реагенти MiSeqDx v3 на Illumina, каталожен номер 20037124, се състои от следните:

- Буфер за разреждане на библиотека, поточна клетка и реагенти след амплификация

## Предоставени реагенти

Комплектът с реагенти Illumina MiSeqDx v3 е набор от реагенти и консумативи за секвениране за еднократна употреба на едно изпълняване на една или повече примерни библиотеки на инструмента MiSeqDx. Броят на примерните библиотеки зависи от мултиплексирането, поддържано от метода за подготовка на библиотеката нагоре по веригата.

Вижте следващите таблици за пълен списък на реагентите, предоставени в този комплект.

### Комплект с реагенти MiSeqDx v3, кутия 1

Таблица 1 Кутия 1 – Следамплификационни реагенти

Компонент	Количество	Номинален обем	Активни съставки	Съхранение
Буфер за разреждане на библиотеки	1 епруветка	4,5 ml	Буфериран воден разтвор	-25°C до -15°C
Касета с реагент MiSeqDx v3 (беязана с РЧИД)	1 във всяка	Различен	Предварително напълнена касета за еднократна употреба	-25°C до -15°C

## Комплект с реагенти MiSeqDx v3, кутия 2

Таблица 2 Кутия 2 – Следамплификационни реагенти

Компонент	Количество	Номинален обем	Активни съставки	Съхранение
Разтвор на натриев бисулфат MiSeqDx (PR2) (беязан с РЧИД)	1 бутилка	500 ml	Буфериран воден разтвор	2°C до 8°C
Поточна клетка MiSeqDx (беязана с РЧИД)	1 във всяка	Не е приложимо	Стъклена поточна клетка за еднократна употреба със сдвоени краища в буфериран воден разтвор	2°C до 8°C

## Съхранение и обработка

- Стайната температура се определя като температура между 15°C и 30°C.
- Следните реагенти се доставят замразени и запазват стабилността си при съхранение при температури от -25°C до -15°C до изтичане на указания срок на годност.
  - Буфер за разреждане на библиотеки
  - Касета с реагенти MiSeqDx v3

**ЗАБЕЛЕЖКА:** Буферът за разреждане на библиотеки и касетата с реагенти MiSeqDx v3 са само за еднократна употреба и са стабилни за максимум едно размразяване до стайна температура преди изтичане на посочения срок на годност. След като се размрази, касетата с реагенти трябва да бъде заредена с библиотека с проби и незабавно да се изпълни на инструмента MiSeqDx. Като алтернатива размразената касета с реагенти може да бъде съхранявана на 2°C до 8°C за до 6 часа, след което да бъде заредена с библиотека с проби и незабавно да се изпълни на инструмента MiSeqDx.

- Следните реагенти се доставят охладени и запазват стабилността си при съхранение при температури от 2°C до 8°C до изтичане на указания срок на годност.
  - Разтвор на натриев бисулфат MiSeqDx (PR2)
  - Поточна клетка MiSeqDx

Разтворът MiSeqDx SBS (PR2) и поточната клетка MiSeqDx са само за еднократна употреба.

- Промените във физическия вид на реагентите могат да показват влошаване на качеството на материалите. Ако настъпят промени във физическия вид (напр. очевидни промени в цвета на реагента или помътняване, което е очевидно при микробно замърсяване), не използвайте реагентите.

## Необходимо оборудване и материали, продавани отделно

- **Инструмент MiSeqDx**, каталожен № DX-410-1001

## Предупреждения и предпазни мерки



### ВНИМАНИЕ

Федералното законодателство ограничава продажбата на това изделие, както и използването или предписването на използването му, да се извършват само от или по предписание на лекар или друг специалист, лицензиран от закона на държавата, в която практикуват.



### ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

**Този набор от реагенти съдържа потенциално опасни химикали. Може да възникнат наранявания в резултат на вдишване, поглъщане, контакт с кожата и контакт с очите. Носете предпазно оборудване, включително защита за очи, ръкавици и лабораторна престилка, подходящи за риска от експозиция. Третирайте използваните реагенти като химичен отпадък и ги изхвърляйте съгласно приложимите регионални, национални и местни закони и нормативни разпоредби. За допълнителна информация относно околната среда, здравето и безопасността вижте информационния лист за безопасност (ИЛБ) на адрес [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).**

(Вижте „Реагенти“ на страница 1 за повече информация.)

- Неспазването на описаните процедури може да доведе до грешни резултати или до значително влошаване на качеството на пробата.

- Използвайте обичайните лабораторни предпазни мерки. Не пипетирайте с уста. Не яжте, не пийте и не пушете в определените работни зони. Носете ръкавици за еднократна употреба и лабораторни престилки при работа с проби и реагенти за анализ. Измийте внимателно ръцете си след работа с проби и реагенти за анализ.
- Необходими са подходящи лабораторни практики и добра лабораторна хигиена, за да се предотврати замърсяването на продуктите от PCR с реагенти, апаратура и геномни ДНК проби. PCR замърсяването може да доведе до неточни и ненадеждни резултати.
- За да предотвратите замърсяване, уверете се, че зоните за предварително амплифициране и последващо амплифициране разполагат със специално оборудване (напр. пипети, накрайници за пипети, вортекс и центрофуга).
- Сдвояването на индекс-проба трябва да съвпада точно с отпечатаното оформление на плоча. Local Run Manager автоматично попълва индексните праймери, свързани с имената на проби, когато се въвеждат в модула. Потвърдете индексните праймери, свързани с проби, преди да започне изпълняването на секвениране. Несъвпаденията между отпечатаното оформление на плочата и пробата водят до загуба на положителна идентификация на пробата и неправилно отчитане на резултатите.
- Незабавно докладвайте за всички сериозни инциденти, свързани с този продукт, на Illumina и на компетентния орган на държавата членка, в която са установени потребителят и/или пациентът.

## Инструкции за употреба

Вижте листовката на инструмента MiSeqDx за вашата област и версията на софтуера на инструмента.

## Функционални характеристики

Вижте листовката на инструмента MiSeqDx за вашата област и версията на софтуера на инструмента.

# Хронология на редакциите

Документ №	Дата	Описание на промяната
Документ № 1000000030849 v04	Ноември 2021 г.	Актуализирана справочна информация в листовката на инструмента MiSeqDx. Актуализирани ограничения на процедурата и предупреждения и предпазни мерки с допълнителни разяснения. Незначителни актуализации за привеждане в съответствие със стила и стандартите на документацията на Illumina.
Документ № 1000000030849 v03	Август 2021 г.	Актуализиран адрес на упълномощен представител в ЕС. Добавена таблица с хронология на редакциите.

## Патенти и търговски марки

Настоящият документ и съдържанието му са собственост на Illumina, Inc. и нейните филиали („Illumina“) и са предназначени само за употреба по силата на договор от страна на клиента и във връзка с използването на продукта(ите), описан(и) в настоящия документ, и с никаква друга цел. Този документ и съдържанието му не трябва да се използват или разпространяват за никаква друга цел и/или по друг начин да бъдат съобщавани, разкривани или възпроизведени по какъвто и да е начин без предварителното писмено съгласие от страна на Illumina. Illumina не предоставя посредством този документ никакъв лиценз за свой патент, търговска марка, авторско право или права по силата на общото право, нито подобни права на която и да е трета страна.

Инструкциите в този документ трябва да се следват строго и изрично от страна на квалифициран и правилно обучен персонал, за да се гарантират правилната и безопасната употреба на продукта(ите), описан(и) в настоящия документ. Цялото съдържание на този документ трябва да бъде прочетено и разбрано напълно, преди да се използва(т) такъв (такива) продукт(и).

**АКО ВСИЧКИ ИНСТРУКЦИИ, СЪДЪРЖАЩИ СЕ В НАСТОЯЩИЯ ДОКУМЕНТ, НЕ БЪДАТ НАПЪЛНО ПРОЧЕТИ И ИЗРИЧНО СПАЗВАНИ, ТОВА МОЖЕ ДА ДОВЕДЕ ДО ПОВРЕДА НА ПРОДУКТ(ИТЕ), НАРАНЯВАНЕ НА ЛИЦАТА, ВКЛЮЧИТЕЛНО НА ПОТРЕБИТЕЛИТЕ ИЛИ ДРУГИ ЛИЦА, И УВРЕЖДАНЕ НА ДРУГО ИМУЩЕСТВО, И ЩЕ ОТМЕНИ ВСЯКАКВА ГАРАНЦИЯ, ПРИЛОЖИМА ЗА ПРОДУКТ(ИТЕ).**

**ILLUMINA НЕ ПОЕМА НИКАКВА ОТГОВОРНОСТ В РЕЗУЛТАТ НА НЕПРАВИЛНАТА УПОТРЕБА НА ПРОДУКТА(ИТЕ), ОПИСАН (И) В НАСТОЯЩИЯ ДОКУМЕНТ (ВКЛЮЧИТЕЛНО ТЕХНИ ЧАСТИ ИЛИ СОФТУЕР).**

© 2021 Illumina, Inc. Всички права запазени.

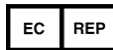
Всички търговски марки са собственост на Illumina, Inc. или съответните им притежатели. За специфична информация относно търговските марки посетете [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).



# Информация за контакт



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122, САЩ  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (извън Северна Америка)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.  
Steenoven 19  
5626 DK Eindhoven  
Нидерландия

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

# Етикетиране на продукта

За пълна справка за символите, които може да се появяват на опаковката и етикетите на продукта, вижте легендата на символите за вашия комплект на [support.illumina.com](http://support.illumina.com).