

# MiSeq™ Dx Reagent Kit v3

İN VİTRO TANI AMAÇLI KULLANIM İÇİNDİR

## Kullanım Amacı

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3, doğrulanmış testlerle birlikte kullanıldığında numune kitaplıklarının sekanslanması için tasarlanan bir dizi reaktif ve sarf malzemesidir. MiSeqDx Reagent Kit v3, MiSeqDx cihazı ve analiz yazılımı ile birlikte kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

## Prosedür İlkeleri

MiSeqDx Reagent Kit v3 girdi için, numune dizinlerinin ve yakalama sekanslarının hedeflere eklendiği, DNA'dan hazırlanan kitaplıkları kullanır. Numune kitaplıkları bir akış hücresinde yakalanır ve sentezle sekanslama (SBS) kimyasıyla cihaz üzerinde sekanslanır. SBS kimyası, büyüyen DNA zincirlerine kaynaştıkça floresan etiketlemeli tek nükleotid bazlarını saptamak için dönüştürülebilir terminatör yöntemini kullanır.

MiSeqDx cihazında sekanslama gerçekleştirme talimatları için, cihaz yazılımınızın versiyonu ve bölgeniz için geçerli olan MiSeqDx Cihazı Kullanım Talimatına bakın.

## Prosedür Kısıtlamaları

- *In vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.
- Bu kullanım talimatında açıklanan kısıtlamalar konusunda, temsili testlerle performansı değerlendirme amacıyla geliştirilen Local Run Manager Germline Variant ve Somatic Variant Module dahil olmak üzere yazılım modülleri ve temsili testler temel alınmıştır.
- İnsersiyon, delesyon veya bunların kombinasyonlarını (insersiyon/delesyon) içeren okumalar. Test yazılımı > 25 bp uzunluğundaki içeriği hizalamaz. Sonuç olarak > 25 baz çifti (bp) uzunluğundaki insersiyon/delesyonlar test yazılımı tarafından saptanamaz.
- Sistem, Germline ve Somatic Variant modül yazılımı ile birlikte kullanıldığında en fazla 25 bp delesyonlar ve 24 bp insersiyonlar ile tek nükleotid varyantlarının (SNV) saptaması için doğrulanmıştır. Somatik arama için, 0,05 varyant frekansında 25 bp delesyonlar ve 18 bp insersiyonlar saptanmıştır.

- Test yazılımı, ampikon okumalarını uç varyant içeriği ile hizalamayabilir ve bu durum, bölgenin yabancı tip olarak raporlanmasına neden olabilir. Bu tür uç içerikler şunları içerir:
  - Üçten fazla insersiyon/delesyon içeren okumalar
  - Toplam ampikon hedef uzunluğunun > %4'ü kadar SNV içeriği bulunan en az 30 bp uzunluğundaki okumalar (prob bölgeleri hariç)
  - Toplam ampikon uzunluğunun > %10'u kadar SNV içeriği bulunan < 30 bp uzunluğundaki okumalar (prob bölgeleri dahil)
- Çoklu nükleotid varyantları (MNV) ve büyük insersiyon/delesyonlar dahil olmak üzere büyük varyantlar, çıktı VCF dosyasında ayrı ayrı daha küçük varyantlar olarak raporlanabilir.
- Delesyon uzunluğu bölünmüş ampikonların arasındaki üst üste gelen kısımdan büyük veya bu kısma eşitse iki bölünmüş ampikon yayılırken delesyon varyantları filtrelenebilir veya kaçırılabilir.
- İnsersiyon/delesyon doğrudan bir primerin bitişiğinde meydana gelirse ve üst üste gelen bir ampikon yoksa sistem insersiyon/delesyonları saptayamaz. Üst üste gelen ampikonların bulunduğu bölgelerde, üst üste gelme bölgesi saptanacak delesyon boyutundan küçük olduğunda test delesyonları saptayamaz. Örneğin, iki bitişik ampikon arasındaki üst üste gelme iki bazsa test bu bazların her ikisini içeren hiçbir delesyonu saptayamaz. Bu bazlardan birinde meydana gelen tek baz delesyonu ise saptanabilir.
- Tüm hibridizasyon temelli kitaplık hazırlama iş akışlarında olduğu gibi oligonükleotid bağlama bölgelerindeki altta yatan polimorfizmler, mutasyonlar, insersiyonlar veya delesyonlar alellerin problemlenmesini ve dolayısıyla sekanslama sırasında yapılan aramaları etkileyebilir. Örneğin:
  - Primer bölgesinde varyant içeren fazdaki bir varyant, amplifiye edilmeyebilir ve böylece yanlış negatif sonuç elde edilebilir.
  - Primer bölgesindeki varyantlar referans alelin amplifikasyonunu engelleyebilir ve böylece hatalı homozigot varyant araması elde edilebilir.
  - Primer bölgesindeki insersiyon/delesyon varyantları, primere bitişik okumanın sonunda yanlış pozitif aramaya neden olabilir.
- İnsersiyon/delesyonlar, bir okumanın sonunda meydana geliyorsa ve hizalama sırasında yazılım tarafından kesiliyorsa zincir biası nedeniyle filtrelenebilirler.
- Küçük MNV'ler doğrulanmamıştır ve yalnızca Somatic Variant Module'de raporlanır.
- Delesyonlar VCF'de, VCF biçimine göre önceki bazın koordinatında raporlanır. Dolayısıyla, bağımsız bir baz aramayı homozigot referans olarak raporlamadan önce bitişik varyantları değerlendirin.
- Germ hattına özgü kısıtlamalar:
  - Local Run Manager Germline Variant Module kullanan MiSeqDx cihazı, germ hattı varyant aramaları için kalitatif sonuçlar sunmak üzere tasarlanmıştır (ör. homozigot, heterozigot, yabancı tip).

- Germline Variant Module ile birlikte kullanıldığında doğru varyant araması için gereken ampikon başına minimum kapsam 150x şeklindedir. Sonuç olarak 150 destekleyici DNA parçası gereklidir ve bu, 300 adet üst üste gelen çift sonlu okumaya eşdeğerdir. Hedeflenen toplam baz sayısı ve numune sayısı kapsamı etkiler. GC içeriği ve diğer genom içeriği, kapsamı etkileyebilir.
- Kopya sayısı varyasyonu, bir varyantın homozigot veya heterozigot olarak tanımlanmasını etkileyebilir.
- Belirli tekrarlı bağlamlardaki varyantlar VCF dosyalarında hariç tutulacak şekilde filtrelendirilir. RMxN tekrar filtresi, varyant sekansının tamamı veya bir kısmı varyant pozisyonuna bitişik referans genomda tekrarlı olarak mevcutsa varyantları filtrelemek için kullanılır. Germ hattı varyant aramasında, bir varyantın filtrelenmesi için referansta en az dokuz tekrar olması gerekir ve yalnızca en fazla 5 bp uzunluğundaki tekrarlar değerlendirilir (R5x9).
- Somatiğe özgü kısıtlamalar:
  - Local Run Manager Somatic Variant Module kullanan MiSeqDx cihazı, somatik varyant araması için kalitatif sonuçlar sunmak üzere tasarlanmıştır (ör. 0,05 saptama sınırı ile  $\geq 0,026$  varyant frekansı içeren somatik varyantın bulunması).
  - Somatic Variant Module ile birlikte kullanıldığında doğru varyant araması için gereken ampikon başına minimum kapsam, oligonükleotid havuzu başına 450x şeklindedir. Sonuç olarak oligonükleotid havuzu başına 450 destekleyici DNA parçası gereklidir ve bu, 900 adet üst üste gelen çift sonlu okumaya eşdeğerdir. Hedeflenen toplam baz sayısı ve numune sayısı kapsamı etkiler. GC içeriği ve diğer genom içeriği, kapsamı etkileyebilir.
  - Somatik varyant aramasında, varyantın filtrelenmesi için referansta en az altı tekrar olması gerekir ve yalnızca en fazla 3 bp uzunluğundaki tekrarlar değerlendirilir (R3x6).
  - Somatic Variant Module, germ hattı ile somatik varyantları ayırt edemez. Modül, geniş bir varyant frekansı yelpazesinde varyantları saptamak için tasarlanmıştır ancak varyant frekansı somatik varyantları germ hattı varyantlarından ayırmak için kullanılamaz.
  - Numunedeki normal doku, varyantların saptanmasını etkiler. Raporlanan saptama sınırı, hem tümör dokusundan hem de normal dokudan ekstrakte edilen toplam DNA'ya nispeten varyant frekansına bağlıdır.

## Ürün Bileşenleri

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3, Katalog No 20037124 şunlardan oluşur:

- Kitaplık seyreltme tamponu, akış hücresi ve post-amp reaktifler

# Temin Edilen Reaktifler

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3, MiSeqDx cihazında bir veya daha fazla numune kitaplığının bir çalıştırmasını sekanslamak için gereken reaktiflerden ve sarf malzemelerinden oluşan tek kullanımlık bir settir. Numune kitaplıklarının sayısı, ilk aşama kitaplık hazırlama yönteminin desteklediği çoğullamaya bağlıdır.

Bu kitte temin edilen reaktiflerin eksiksiz bir listesi için aşağıdaki tablolara bakın.

## MiSeqDx Reagent Kit v3, Kutu 1

Tablo 1 Kutu 1 Post-Amp Reaktifleri

Bileşen	Miktar	Dolum Hacmi	Aktif Bileşenler	Depolama
Library Dilution Buffer (Kitaplık Seyreltme Tamponu)	1 tüp	4,5 ml	Tamponlanmış sulu çözelti	-25 °C ila -15 °C
MiSeqDx Reagent v3 Cartridge (RFID-labeled) [MiSeqDx Reagent v3 Kartuşu (RFID etiketli)]	1 adet	Çeşitli	Tek kullanımlık önceden doldurulmuş kartuş	-25 °C ila -15 °C

## MiSeqDx Reagent Kit v3, Kutu 2

Tablo 2 Kutu 2 Post-Amp Reaktifleri

Bileşen	Miktar	Dolum Hacmi	Aktif Bileşenler	Depolama
MiSeqDx SBS Solution (PR2) (RFID-labeled) [MiSeqDx SBS Solution (PR2) (RFID etiketli)]	1 şişe	500 ml	Tamponlanmış sulu çözelti	2 °C ila 8 °C
MiSeqDx Flow Cell (RFID-labeled) [MiSeqDx Flow Cell (RFID etiketli)]	1 adet	Geçerli Değil	Tamponlanmış sulu solüsyon içinde tek kullanımlık çift sonlu cam akış hücresi	2 °C ila 8 °C

# Depolama ve Taşıma

- Oda sıcaklığı 15 °C ila 30 °C olarak tanımlanmıştır.

- Aşağıdaki reaktifler donmuş olarak gönderilir ve -25 °C ila -15 °C'de depolandıklarında belirtilen son kullanma tarihine dek stabildir.
  - Kitaplık Seyreltme Tamponu
  - MiSeqDx Reagent v3 Cartridge

**NOT:** Kitaplık Seyreltme Tamponu ve MiSeqDx Reagent v3 Cartridge yalnızca tek kullanımlık olup belirtilen son kullanma tarihinden önce en fazla bir kez oda sıcaklığına çözündürme işlemi için stabildir. Reaktif kartuşunun buzu çözdürüldükten sonra kartuşa numune kitaplığı yüklenmelidir ve kartuş doğrudan MiSeqDx cihazında çalıştırılmalıdır. Alternatif olarak buzu çözdürülen reaktif kartuşu 6 saate kadar 2 °C ila 8 °C'de tutulabilir, ardından kartuşa numune kitaplığı yüklenmelidir ve kartuş doğrudan MiSeqDx cihazında çalıştırılmalıdır.

- Aşağıdaki reaktifler soğutulmuş olarak gönderilir ve 2 °C ila 8 °C'de depolandıklarında belirtilen son kullanma tarihine dek stabildir.
  - MiSeqDx SBS Solution (PR2)
  - MiSeqDx Flow CellMiSeqDx SBS Solution (PR2) ve MiSeqDx Flow Cell yalnızca tek kullanımlıktır.
- Reaktiflerin fiziksel görünümündeki değişiklikler materyallerin bozulduğunu gösterebilir. Fiziksel görünümde değişiklikler oluşursa (ör. reaktif renginde belirgin değişiklikler veya mikrobiyal bulaşmayla gözle görünür bulanıklık) reaktifleri kullanmayın.

## Gereken ve Ayrı Satılan Ekipman ve Materyaller

- **MiseqDx Cihazı**, Katalog No DX-410-1001

## Uyarılar ve Tedbirler



### DİKKAT

Federal yasalar, bu cihazın kullanılmak ya da kullanılmasını sipariş etmek üzere yalnızca hekimler ya da faaliyet gösterdiği Eyalet kanunlarınca lisanslı olan diğer pratisyen hekimler tarafından veya bu hekimlerin siparişi üzerine satılması yönünde kısıtlama getirmektedir.



## UYARI

**Bu reaktif seti potansiyel olarak tehlikeli kimyasallar içerir. Solunması, yutulması, ciltle ve gözle teması halinde kişisel yaralanmaya neden olabilir. Maruziyet riskine karşı göz koruması, eldivenler ve laboratuvar önlüğü dahil olmak üzere koruyucu ekipman giyin. Kullanılan reaktifleri kimyasal atık olarak ele alın ve geçerli bölgesel, ulusal ve yerel kanun ve düzenlemeler uyarınca atın.** Ek çevre, sağlık ve güvenlik bilgileri için, [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html) adresindeki güvenlik veri sayfası (SDS) bölümüne bakın.

(Daha fazla bilgi için bkz. Reaktifler, sayfa 1.)

- Belirtilen prosedürlerin uygulanmaması hatalı sonuçlara veya numune kalitesinde belirgin azalmaya neden olabilir.
- Rutin laboratuvar tedbirlerini uygulayın. Ağızınızla pipetlemeyin. Belirlenmiş çalışma alanlarında yemek yemeyin, içecek tüketmeyin veya sigara içmeyin. Numuneleri ve test reaktiflerini kullanırken tek kullanımlık eldiven takın ve laboratuvar önlüğü giyin. Numuneleri ve test reaktiflerini elledikten sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- PCR ürünlerinin reaktifleri, cihazları ve genomik DNA numunelerini kontamine etmesini önlemek için uygun laboratuvar uygulamalarının ve iyi düzeyde laboratuvar hijyeninin sağlanması gerekir. PCR kontaminasyonu hatalı ve güvenilmez sonuçlar elde edilmesine yol açabilir.
- Kontaminasyonun önüne geçmek için pre-amplifikasyon ve post-amplifikasyon alanlarında özel ekipmanların bulunduğundan emin olun (ör. pipetler, pipet uçları, vorteks cihazı ve santrifüj).
- Dizin-numune çifti, yazdırılan plaka düzeni ile tam olarak eşleşmelidir. Local Run Manager modüle girildiklerinde numune adlarıyla ilişkili dizin primerlerini otomatik olarak doldurur. Sekanslama çalıştırmasını başlatmadan önce dizin primerlerinin numunelerle ilişkilendirildiğini doğrulayın. Yazdırılan plaka düzeni ile numune arasındaki uyumsuzluklar, pozitif numune tanımlamasının kaybına ve hatalı sonuç raporlamaya yol açacaktır.
- Bu ürünle ilgili olarak ortaya çıkan tüm ciddi olayları derhal Illumina'ya ve kullanıcının ve hastanın bulunduğu Üye Devletin Yetkili Makamına raporlayın.

# Kullanım Talimatları

Cihaz yazılımınızın versiyonu ve bölgeniz için geçerli olan MiSeqDx Cihazı Kullanım Talimatına bakın.

# Performans Özellikleri

Cihaz yazılımınızın versiyonu ve bölgeniz için geçerli olan MiSeqDx Cihazı Kullanım Talimatına bakın.

# Revizyon Geçmişi

Belge No	Tarih	Değişiklik Açıklaması
Belge No 1000000030849 v04	Kasım 2021	MiSeqDx Cihazı Kullanım Talimatı referansları güncellendi. Prosedür Kısıtlamaları ve Uyarılar ve Tedbirler bölümleri ek açıklamalarla güncellendi. Illumina belge stili ve standartları ile uyumlu hale getirmek üzere ufak güncellemeler yapıldı.
Belge No 1000000030849 v03	Ağustos 2021	AB Yetkili Temsilcisinin adresi güncellendi. Revizyon Geçmişi tablosu eklendi.

## Patentler ve Ticari Markalar

Bu belge ve içindekiler Illumina, Inc. ve bağlı şirketlerinin ("Illumina") mülkiyetinde olup yalnızca işbu belgede açıklanan ürünün/ürünlerin kullanımıyla bağlantılı olarak müşterisinin sözleşmeye ilişkin kullanımı içindir. Bu belge ve içindekiler Illumina'nın önceden yazılı izni olmaksızın başka hiçbir amaçla kullanılamaz veya dağıtılamaz ve/veya hiçbir şekilde iletilemez, ifşa edilemez ya da kopyalanamaz. Illumina bu belge ile patenti, ticari markası, telif hakkı veya genel hukuk hakları ya da üçüncü tarafların benzer hakları kapsamında hiçbir lisansı devretmez.

Bu belgede açıklanan ürünün/ürünlerin uygun ve güvenli bir şekilde kullanılması için nitelikli ve uygun eğitim almış çalışanlar bu belgedeki talimatları tam olarak ve açık bir şekilde uygulamalıdır. Söz konusu ürün/ürünler kullanılmadan önce bu belgedeki tüm bilgiler tam olarak okunmalı ve anlaşılmalıdır.

**BU BELGEDE YER ALAN TÜM TALİMATLARIN TAMAMEN OKUNMAMASI VE AÇIK BİR ŞEKİLDE UYGULANMAMASI, ÜRÜNÜN/ÜRÜNLERİN HASAR GÖRMESİNE, KULLANICI VEYA BAŞKALARI DAHİL OLMAK ÜZERE KİŞİLERİN YARALANMASINA VE DİĞER MALLARIN ZARAR GÖRMESİNE NEDEN OLABİLİR VE ÜRÜN/ÜRÜNLER İÇİN GEÇERLİ OLAN HER TÜRLÜ GARANTİYİ GEÇERSİZ KILACAKTIR.**

**ILLUMINA BU BELGEDE AÇIKLANAN ÜRÜNÜN/ÜRÜNLERİN (ÜRÜNÜN PARÇALARI VE YAZILIMI DAHİL) YANLIŞ KULLANIMINDAN DOĞAN DURUMLARDAN SORUMLU TUTULAMAZ.**

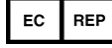
© 2021 Illumina, Inc. Tüm hakları saklıdır.

Tüm ticari markalar Illumina, Inc. veya ilgili sahiplerinin malıdır. Özel ticari marka bilgileri için bkz. [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

# İletişim Bilgileri



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 ABD  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (Kuzey Amerika dışından)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



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

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

# Ürün Etiketi

Ürün ambalajı ve etiketinde görülebilecek sembollere dair eksiksiz referans için [support.illumina.com](http://support.illumina.com) adresinden kitinize yönelik sembol anahtarına bakın.