

Sada reagensií MiSeq™ Dx Reagent Kit v3

URČENO K DIAGNOSTICE IN VITRO

Účel použití

Sada reagensií Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 je sada reagensií a spotřebních materiálů určených pro sekvenování knihoven vzorků při provádění validovaných rozborů. Sada reagensií MiSeqDx Reagent Kit v3 je určena k použití s přístrojem MiSeqDx a analytickým softwarem.

Principy postupu

Jako vstup tato sada reagensií MiSeqDx Reagent Kit v3 používá knihovny připravené z DNA, kdy se indexy vzorků a zachycené sekvence připojují k cílům. Knihovny vzorků se zachytí v průtokové kyvetě a jsou přístrojem sekvenovány pomocí technologie syntézy sekvenováním (SBS). Technologie SBS využívá metodu reverzibilního terminátoru k detekci fluorescenčně značených jednotlivých nukleotidových bází tak, jak se začleňují do rostoucích řetězců DNA.

Pokyny k sekvenování na přístroji MiSeqDx naleznete v příbalovém letáku k přístroji MiSeqDx pro vaši oblast a verzi softwaru přístroje.

Omezení postupu

- Určeno k diagnostice *in vitro*.
- Omezení popsaná v tomto příbalovém letáku jsou založena na reprezentativních rozbořech a softwarových modulech, včetně modulů Germline Variant a Somatic Variant softwaru Local Run Manager, které byly vyvinuty za účelem vyhodnocení výsledků reprezentativních rozborů.
- Čtení obsahující inzerce, delece nebo jejich kombinace (indely). Čtení, kde je délka obsahu > 25 bázových párů (bp) rozborový software neseřadí. Proto indely o délce > 25 bázových párů (bp) nelze rozborovým softwarem detekovat.
- Systém byl validován pro detekci jednonukleotidových variant (SNV) a až 25 bp delecí a 24 bp inzercí při použití se softwarem pro moduly Germline Variant a Somatic Variant. Pro somatické volání bylo při frekvenci variant 0,05 zjištěno 25 bp delecí a 18 bp inzercí.

- Rozborový software nemusí seřadit čtení ampliconů s extrémním obsahem variant, což může vyústit v to, že oblast bude vykázána jako divoký typ. Takový extrémní obsah zahrnuje:
 - Čtení obsahující více než tři indely
 - Čtení o délce alespoň 30 bp s obsahem SNV (jednonukleotidová varianta) > 4 % celkové cílové délky ampliconu (vyjma sondovacích míst)
 - Čtení o délce <30 bp s obsahem SNV >10 % celkové délky ampliconu (včetně oblastí sondy)
- Velké varianty, včetně vícenukleotidových variant (MNV) a velkých indelů, mohou být ve výstupním souboru VCF vykázány jako samostatné menší varianty.
- Varianty delecí mohou být při přemostění dvou překrývajících ampliconů filtrovány nebo opomenuty, je-li délka delece větší než překryv mezi překrývajícími amplicony, nebo se mu rovná.
- Systém nedokáže detekovat indely, pokud sousedí přímo s primerem a není zde žádný překrývající amplicon. U oblastí s překrývajícími amplicony rozbor nedokáže detekovat delece, pokud je oblast překrytí menší než velikost delece, která se má detekovat. Pokud například oblast překrytí dvou sousedících ampliconů zahrnuje dvě báze, rozbor nedokáže detekovat žádné delece včetně těchto dvou bází. Delece jedné báze na kterékoliv z těchto bází zjištěna být může.
- Podobně jako u jakéhokoliv pracovního postupu přípravy knihovny na bázi hybridizace mohou vlastní polymorfismy, mutace, inserce či delece ve vazebných oblastech oligonukleotidů ovlivnit alely, na něž sonda cílí, a tedy i signály uskutečněné v průběhu sekvenování. Příklad:
 - Varianta ve fázi s variantou v oblasti primeru nemusí být amplifikována, což má za následek falešně negativní výsledek.
 - Varianty v oblasti primeru by mohly zabránit amplifikaci referenční alely, což by vedlo k nesprávnému signálu homozygotní varianty.
 - Varianty indelů v oblasti primeru mohou způsobit falešné pozitivní volání na konci čtení přilehlého k primeru.
- Pokud se indely vyskytnou poblíž konce jednoho čtení a během seřazení se jemně připnou, lze je kvůli vychýlení vláken filtrovat.
- Malé MNV se nepotvrdí a jsou vykázány pouze v modulu pro analýzu somatických variant.
- Delece se vykážou ve VCF na souřadnici předcházející báze v souladu s formátem VCF. Proto se v případech přiléhajících variant musí zvážit, než se vykáže, že signál individuální báze je homozygotní reference.
- Omezení specifická pro germinální postup:
 - Přístroj MiSeqDx používající modul Germline Variant softwaru Local Run Manager je určen k poskytování kvalitativních výsledků volání germinálních variant (např. homozygotních, heterozygotních, divokého typu).
 - Při použití s modulem pro analýzu germinálních variant je pro přesné volání variant potřeba minimální pokrytí na amplicon 150x. V důsledku toho je potřeba 150 podpůrných fragmentů DNA, což odpovídá 300 překrývajícím se čtením párových konců.

Počet vzorků a celkový cílený počet bází ovlivňuje pokrytí. Pokrytí může být ovlivněno obsahem GC a jiným genomickým obsahem.

- Zda bude varianta identifikována jako homozygotní nebo heterozygotní, může být ovlivněno variabilitou počtu kopií.
- Varianty v určitém opakujícím se kontextu se vyfiltrují do souborů VCF. Pro filtrování variant v případech, kdy se celá nebo částečná sekvence varianty objevuje v referenčním genomu přiléhajícím k pozici varianty opakovaně, se používá filtr opakování RMxN. V případě signálu varianty zárodečné linie vyžaduje filtrace varianty minimálně devět opakování v referenci, přičemž se zohlední pouze opakování o délce do 5 bp (R5x9).
- Specifická omezení týkající se somatických variant:
 - Přístroj MiSeqDx používající modul Somatic Variant softwaru Local Run Manager je navržen tak, aby poskytoval kvalitativní výsledky signálu somatických variant (např. přítomnost somatické varianty s četností varianty $\geq 0,026$ s limitem detekce 0,05).
 - Při použití s modulem pro analýzu somatických variant je pro přesné volání variant potřeba minimální pokrytí na amplikon 450x na oligonukleotidový fond. Na jeden fond oligonukleotidů je tedy zapotřebí 450 podpůrných fragmentů DNA, což odpovídá 900 překrývajícím se čtením párových konců. Počet vzorků a celkový cílený počet bází ovlivňuje pokrytí. Pokrytí může být ovlivněno obsahem GC a jiným genomickým obsahem.
 - U volání somatických variant je pro filtrování varianty potřeba alespoň šest opakování v referenci, přičemž se berou v úvahu pouze opakování o délce max. 3 bp (R3x6).
 - Modul pro analýzu somatických variant nedokáže rozlišit mezi germinálními a somatickými variantami. Modul je určen k detekování variant v celé řadě frekvencí variant, ale frekvenci variant nelze použít k rozlišení somatických variant od germinálních variant.
 - Detekci variant ovlivňuje normální tkáň ve vzorku. Vykázaná mez detekce je založená na frekvenci variant vzhledem k celkové DNA izolované z nádoru a z normální tkáně.

Složky produktu

Sada reagensií Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3, katalogové č. 20037124, obsahuje následující položky:

- Pufr pro ředění knihoven, průtoková kyveta a reagensie po amplifikaci

Dodané reagensie

Sada reagensií Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 je sada reagensií a spotřebních materiálů k jednorázovému použití pro sekvenování jednoho cyklu jedné nebo více knihoven vzorků na přístroji MiSeqDx. Počet knihoven vzorků závisí na multiplexaci podporované upstream metodou přípravy knihovny.

Úplný seznam reagensů obsažených v této sadě naleznete v následujících tabulkách.

Sada reagensů MiSeqDx Reagent Kit v3, krabice 1

Tabulka 1 Krabice 1, reagensie po amplifikaci

Komponenta	Množství	Objem plnění	Účinné látky	Skladování
Pufr pro ředění knihoven	1 zkumavka	4,5 ml	Pufrovaný vodný roztok	-25 °C až -15 °C
Kazeta reagensů MiSeqDx Reagent v3 Cartridge (štítek na čtečce RFID)	1 kus	Různé	Předem naplněná kazeta na jedno použití	-25 °C až -15 °C

Sada reagensů MiSeqDx Reagent Kit v3, krabice 2

Tabulka 2 Krabice 2, reagensie po amplifikaci

Komponenta	Množství	Objem plnění	Účinné látky	Skladování
Roztok pro SBS MiSeqDx (PR2) (štítek na čtečce RFID)	1 lahev	500 ml	Pufrovaný vodný roztok	2 °C až 8 °C
Průtoková kyveta MiSeqDx (štítek na čtečce RFID)	1 kus	Není k dispozici	Skleněná průtoková kyveta pro sekvenování párových konců k jednorázovému použití, v pufrovaném vodném roztoku	2 °C až 8 °C

Skladování a manipulace

- Pokojová teplota je definována jako 15 °C až 30 °C.
- Následující reagensie se dodávají zmrazené a jsou stabilní při skladování při teplotě -25 °C až -15 °C až do uvedeného data konce použitelnosti.
 - Pufr pro ředění knihoven
 - Kazeta MiSeqDx Reagent v3 Cartridge

POZNÁMKA: Pufr pro ředění knihoven a kazeta reagensů MiSeqDx Reagent v3 Cartridge jsou pouze na jedno použití a jsou stabilní maximálně po jednom rozmrazení na pokojovou teplotu před uvedeným datem konce použitelnosti. Po rozmrazení je třeba vložit kazetu reagensů s knihovnou vzorků a okamžitě spustit sekvenování na přístroji MiSeqDx. Případně lze rozmrazenou kazetu reagensů uchovávat při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 6 hodin, poté do ní vložit knihovnu vzorků a okamžitě spustit sekvenování na přístroji MiSeqDx.

- Následující reagentie se dodávají chlazené a jsou stabilní při skladování při teplotě 2 °C až 8 °C až do uvedeného data konce použitelnosti.
 - Roztok pro SBS MiSeqDx (PR2)
 - Průtoková kyveta MiSeqDxRoztok pro SBS MiSeqDx (PR2) a průtoková kyveta MiSeqDx jsou pouze na jedno použití.
- Změny fyzického vzhledu reagensů mohou znamenat poškození materiálů. Dojde-li ke změně fyzického vzhledu (například ke zjevným změnám barvy reagensů nebo výskytu zákalu typického pro mikrobiální kontaminaci), reagentie nepoužívejte.

Požadované vybavení a materiály, prodávané samostatně

- **Přístroj MiSeqDx**, katalogové č. DX-410-1001

Varování a preventivní opatření



UPOZORNĚNÍ

Podle federálních zákonů se prodej tohoto zdravotnického prostředku omezuje na prodej lékařem nebo jiným držitelem povolení k používání tohoto zdravotnického prostředku či vystavení poukazu na tento prostředek v daném státě nebo na prodej na základě jimi vystaveného poukazu.



VAROVÁNÍ

Tato sada reagensií obsahuje potenciálně nebezpečné chemické látky. Vdechováním, požitím, stykem s kůží a vniknutím do očí může dojít k poranění. Používejte ochranné pomůcky včetně ochranných brýlí, rukavic a laboratorního pláště, které jsou adekvátní pro možná rizika. S použitými reagensiemi nakládejte jako s chemickým odpadem a zlikvidujte je v souladu se zákony a normami platnými ve vaší zemi. Další informace týkající se ochrany životního prostředí, zdraví a bezpečnosti práce naleznete na bezpečnostních listech (SDS) na stránce support.illumina.com/sds.html.

(Další informace naleznete v části týkající se reagensií na straně 1.)

- Nedodržení uvedených postupů může vést k chybným výsledkům nebo významnému snížení kvality vzorku.
- Dodržujte běžná laboratorní preventivní opatření. Nepipetujte ústy. Ve vyhrazených pracovních prostorech nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensiemi rozboru používejte jednorázové rukavice a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a reagensiemi rozboru si důkladně umyjte ruce.
- Dodržujte postupy správné laboratorní praxe a hygieny, aby nedošlo ke kontaminaci reagensií, nástrojů a genomických vzorků DNA produkty PCR. Kontaminace PCR může vést k nepřesným a nespolehlivým výsledkům.
- Aby se zabránilo kontaminaci, zajistěte, aby vybavení v pre-amplifikačních a post-amplifikačních prostorách (např. pipety, špičky pipet, vortexová třepačka a odstředivka) bylo dedikované.
- Párování indexů se vzorky se musí přesně shodovat s tištěným rozvržením desky. Software Local Run Manager automaticky vyplní indexové primery související s názvy vzorků, když se zadají do modulu. Před spuštěním běhu sekvenování ověřte spojení indexových primerů a vzorků. Rozdíly mezi tištěným rozvržením desky a vzorky vyústí ve špatnou identifikaci pozitivních vzorků a vykazání nesprávných výsledků.
- Neprodleně nahlase veškeré závažné události související s tímto produktem společnosti Illumina a příslušným orgánům členských států, ve kterých působí uživatel a/nebo pacient.

Návod k použití

Viz příbalový leták k přístroji MiSeqDx pro vaši oblast a verzi softwaru přístroje.

Výkonnostní charakteristiky

Viz příbalový leták k přístroji MiSeqDx pro vaši oblast a verzi softwaru přístroje.

Historie revizí

Dokument č.	Datum	Popis změny
Dokument č. 100000030849 v04	Listopad 2021	Byla aktualizována dokumentace k přístroji MiSeqDx. Byly aktualizovány a doplněny o další vysvětlení části Omezení postupu a Varování a preventivní opatření. Drobné aktualizace pro sladění se stylem a standardy dokumentace společnosti Illumina.
Dokument č. 100000030849 v03	Srpen 2021	Aktualizována adresa oprávněného zástupce v EU. Byla přidána tabulka historie revizí.

Patenty a ochranné známky

Tento dokument a jeho obsah je vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. a jejich přidružených společností (dále jen „Illumina“). Slouží výlučně zákazníkovi ke smluvním účelům v souvislosti s použitím zde popsaných produktů a k žádnému jinému účelu. Tento dokument a jeho obsah nesmí být používán ani šířen za žádným jiným účelem ani jinak sdělován, zveřejňován či rozmnožován bez předchozího písemného souhlasu společnosti Illumina. Společnost Illumina nepředává tímto dokumentem žádnou licenci na svůj patent, ochrannou známku, autorské právo či práva na základě zvykového práva ani žádná podobná práva třetích stran.

Pokyny v tomto dokumentu musí být důsledně a výslovně dodržovány kvalifikovaným a řádně proškoleným personálem, aby bylo zajištěno správné a bezpečné používání zde popsaných produktů. Veškerý obsah tohoto dokumentu musíte před použitím takových produktů beze zbytku přečíst a pochopit.

NEDODRŽENÍ POŽADAVKU NA PŘEČTENÍ CELÉHO TEXTU A NA DŮSLEDNÉ DODRŽOVÁNÍ ZDE UVEDENÝCH POKYNŮ MŮŽE VÉST K POŠKOZENÍ PRODUKTŮ, PORANĚNÍ OSOB, AŽ UŽ UŽIVATELŮ ČI JINÝCH OSOB, A POŠKOZENÍ JINÉHO MAJETKU A POVEDE KE ZNEPLATNĚNÍ JAKÉKOLI ZÁRUKY VZTAHUJÍCÍ SE NA PRODUKT.

SPOLEČNOST ILLUMINA NA SEBE NEBERE ŽÁDNOU ODPOVĚDNOST VYPLÝVAJÍCÍ Z NESPRÁVNÉHO POUŽITÍ ZDE POPSANÝCH PRODUKTŮ (VČETNĚ DÍLŮ TĚCHTO PRODUKTŮ NEBO SOFTWARE).

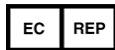
© 2021 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

Všechny ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. nebo jejich příslušných vlastníků. Informace o konkrétních ochranných známkách naleznete na adrese www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktní údaje



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, Kalifornie 92122 U.S.A.
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (mimo Severní Ameriku)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Australský sponzor

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

Štítky na produktech

Úplné vysvětlení symbolů, které se mohou objevit na balení a označení produktů, naleznete v přehledu symbolů pro vaši sadu na adrese support.illumina.com.