

MiSeq™ Dx reagenskészlet v3

IN VITRO DIAGNOSZTIKAI HASZNÁLATRA

Rendeltetés

Az Illumina A MiSeqDx reagenskészlet v3 reagenseket és fogyóeszközöket tartalmazó készlet, amely mintakönyvtárak szekvenálására szolgál hitelesített vizsgálatokkal együtt. A MiSeqDx reagenskészlet v3 a A MiSeqDx készülékkel és elemzőszoftverrel való használatra szolgál.

Az eljárás működési elve

A MiSeqDx reagenskészlet v3 termék használatához bemenetként DNS-ből elkészített könyvtárak szolgálnak, amelyek célkönyvtárakat, mintaindexeket és befogó szekvenciákat tartalmaznak. A készülék a mintakönyvtárakat egy áramlási cellában rögzíti, és szintézissel végzett szekvenálás (SBS) kémiai módszerrel szekvenálja. Az SBS során a fluoreszcensen jelölt egyes nukleotidbázisok kimutatása reverzibilis terminációs módszerrel történik, amint azok beépülnek a növekvő DNS-szálakba.

A MiSeqDx készüléken történő szekvenáláshoz való utasítások a MiSeqDx készülék terméktájékoztatójában találhatóak, amely az Ön országára és a készülék szoftverének verziójára vonatkozik.

Az eljárás korlátai

- *In vitro* diagnosztikai használatra.
- Az ebben a terméktájékoztatóban leírt korlátozások reprezentatív teszteken és szoftvermodulokon alapulnak, beleértve a Local Run Manager csírvonalbeli variáns és szomatikus variáns moduljait, amelyeket reprezentatív tesztek teljesítményének értékelése céljából fejlesztettek ki.
- Inzerciók, deléciók és ezek kombinációi (indelek) kimutatására alkalmas.
A vizsgálati szoftver nem illeszti a > 25 bázispár hosszúságú tartalmakat. Ezért a vizsgálati szoftver nem azonosítja a > 25 bázispár (bp) hosszúságú indeleket.
- A rendszer hitelesítve van az egynukleotid-variánsok (SNP) és a legfeljebb 25 bp hosszúságú deléciók és legfeljebb 24 bp hosszúságú inzerciók kimutatására a csírvonalbeli és a szomatikus variáns modulok szoftverével. A szomatikus azonosításra 0,05 variánsgyakoriság esetén 25 bp méretű deléciók és 18 bp méretű inzerciók kimutatását igazolták.

- Előfordulhat, hogy a vizsgálati szoftver nem illeszti a szélsőséges tartalmú variánsokat tartalmazó ampliconkiolvasásokat, és ezért a területet vad típusúként jelenti. Ilyen szélsőséges tartalomnak minősülnek a következők:
 - Több mint három indelt tartalmazó kiolvasások
 - Legalább 30 bp hosszúságú, a teljes amplicon (a próbaterületek kivételével) méretének > 4%-át kitevő SNV-t tartalmazó kiolvasások
 - A < 30 bp hosszúságú, a teljes amplicon méretének (a próbaterületekkel együtt) > 10%-át kitevő SNV-t tartalmazó kiolvasások
- A nagy variánsok, beleértve a több nukleotidból álló variánsokat (MNV-k) és a nagy indelek, a kimeneti VCF-fájlból különálló kisebb variánsokként szerepelhetnek.
- A deléciós variánsok kiszűrésre vagy kihagyásra kerülhetnek, ha több két, egymás melletti ampliconra terjednek ki, ha a deléción legalább olyan hosszú, mint a két amplicon közötti átfedés.
- A rendszer nem tudja kimutatni a közvetlenül egy primer mellett elhelyezkedő indeleket, ha nincs átfedő amplicon. Az átfedő ampliconokat tartalmazó területeken a vizsgálat nem tudja kimutatni a deléciókat, ha az átfedési terület kisebb a kimutatandó deléción méreténél. Ha például két egymás melletti amplicon közötti átfedés két bázispár, a vizsgálat nem tudja kimutatni azokat a deléciókat, amelyek mindkét bázist tartalmazzák. A két bázis közül az egyik deléciója kimutatható.
- Mint minden hibridizációs alapú könyvtár-előkészítési munkafolyamat esetén, az oligonukleotid-kötő területeket érintő polimorfizmusok, mutációk, inzerciók és deléciók befolyásolhatják a vizsgált allélokat és ezzel a szekvenálással kapott azonosításokat. Például:
 - Lehetséges, hogy a primer területén lévő, egy fázisban lévő variáns nem amplifikálódik, álnegatív eredményt okozva.
 - A primer területén elhelyezkedő variánsok megakadályozhatják a referenciaallél amplifikációját, ami helytelen homozigóta variáns azonosítását okozza.
 - A primer területén lévő indel variánsok a primer melletti kiolvasás álpozitív azonosítását okozhatják.
- Előfordulhat az indelek kiszűrése, ha egy kiolvasás végéhez közel lépnek fel, és az illesztés során puha levágásra kerülnek.
- A kis méretű MNV-k kimutatását nem hitelesítették, és ezek csak a szomatikus variáns modul jelentésében szerepelnek.
- A VCF-ben a deléciók jelentése a VCF formátum szerinti megelőző bázis koordinátáján történik. Ezért vegye figyelembe a szomszédos variánsokat, mielőtt azt lelelezné, hogy egy egyedi bázisazonosítás homozigóta referencia.
- Csak a csírvonal munkafolyamatra vonatkozó korlátozások:
 - A MiSeqDx készülék a Local Run Manager csírvonalbeli variánsazonosító modullal a csírvonalbeli variánsok azonosítása kvalitatív eredményének a meghatározására szolgál (például homozigóta, heterozigóta, vad típus).

- A Germline variánsazonosító modullal használva a pontos variánsazonosításhoz szükséges minimális amplitikonkénti előfordulás 150x. Tehát legalább 150, ezt alátámasztó DNS-fragmentum szükséges, ami 300 egymást átfedő páros végű kiolvasással egyenértékű. A minták mérete és az összes vizsgált bázis száma befolyásolja ezt a másolatszámot. A GC-tartalom és más genomikus tartalmak befolyásolhatják a másolatszámot.
- A másolatszám befolyásolhatja, hogy egy variáns homozigótaként vagy heterozigótaként kerül azonosításra.
- Bizonyos, ismétlődő tartalmú környezetben található variánsok kiszűrésre kerülnek a VCF fájljokból. Az RMxN ismétlési szűrő a variánsok kiszűrésére szolgál olyan esetekben, amikor a variáns szekvencia vagy annak egy része ismételten jelen van a variáns helyzete melletti referenciagenomban. A csírvonalbeli variánsok azonosítása esetén a referenciagenomban legalább kilenc ismétlődés szükséges a variáns kiszűréséhez, és csak legfeljebb 5 bp hosszúságú ismétlésekre vonatkozik (R5x9).
- Csak a szomatikus munkafolyamatra vonatkozó korlátozások:
 - A MiSeqDx készülék a Local Run Manager szomatikus variánsazonosító modullal a szomatikus variánsok azonosítása kvalitatív eredményének a meghatározására szolgál (például legalább 0,026 variánsgyakoriságú szomatikus variánsok jelenléte esetén, 0,05 detektálási határérték mellett).
 - A Somatic variánsazonosító modullal használva a pontos variánsazonosításhoz szükséges minimális amplitikonkénti előfordulás oligonukleotid poolonként 450x. Ennek eredményeképp 450 ezt alátámasztó DNS-fragmentum szükséges oligonukleotid készletenként, amely 900 egymást átfedő páros végű kiolvasással egyenértékű. A minták mérete és az összes vizsgált bázis száma befolyásolja ezt a másolatszámot. A GC-tartalom és más genomikus tartalmak befolyásolhatják a másolatszámot.
 - A szomatikus variánsok azonosítása esetén a referenciagenomban legalább hat ismétlődés szükséges a variáns kiszűréséhez, és csak legfeljebb 3 bp hosszúságú ismétlésekre vonatkozik (R3x6).
 - A szomatikus variáns modul nem alkalmas a csírvonalbeli és a szomatikus variánsok elkülönítésére. A modul a gyakoriságok nagy tartományában előforduló variánsok kimutatására szolgál, azonban a variáns gyakorisága nem használható a szomatikus és a csírvonalbeli variánsok elkülönítésére.
 - A mintában található egészséges szövetek befolyásolják a variánsok kimutatását. Az említett kimutatási határérték a daganatos szövetből és az egészséges szövetből kivont variáns és normál DNS gyakorisága közötti arányon alapul.

A termék összetevői

Az Illumina MiSeqDx reagenskészlet v3 (katalógusszám: 20037124) a következőket tartalmazza:

- Könyvtárhígító puffer, áramlási cella és amplifikáció utáni reagensek

Szállított reagensek

Az Illumina MiSeqDx reagenskészlet v3 egyszer használatos készlet a MiSeqDx készüléken egy vagy több mintakönyvtár szekvenálására végzett egy futtatáshoz szükséges reagenseket és fogyóeszközöket tartalmazza. A mintakönyvtárak száma a felfelé történő könyvtárkészítési módszer által támogatott multiplexeléstől függ.

A készletben található reagensek teljes felsorolását lásd a következő táblázatokban.

MiSeqDx reagenskészlet v3, 1. doboz

1. ábra: 1. doboz, amplifikáció után használatos reagensek

Komponens	Darab	Térfogat	Hatóanyagok	Tárolás
Könyvtárhígítási puffer	1 cső	4,5 ml	Pufferelt vizes oldat	-25 °C és -15 °C között
MiSeqDx reagens v3 kazetta (RFID-címkével)	1 db	Többféle	Egyszer használatos, előre megtöltött kazetta	-25 °C és -15 °C között

MiSeqDx reagenskészlet v3, 2. doboz

2. ábra: 2. doboz, amplifikáció után használatos reagensek

Komponens	Darab	Térfogat	Hatóanyagok	Tárolás
MiSeqDx SBS oldat (PR2) (RFID-címkével)	1 üveg	500 ml	Pufferelt vizes oldat	2 °C és 8 °C között
MiSeqDx áramlási cella (RFID-címkével)	1 db	NA	Egyszer használatos, páros végű, üvegből készült áramlási cella pufferelt vizes oldatban	2 °C és 8 °C között

Tárolás és kezelés

- A szobahőmérséklet a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet jelenti.
- A következő reagensek fagyasztva kerülnek szállításra, és -25 °C és -15 °C között tárolva a feltüntetett lejárati időig stabilak.
 - Könyvtárhígítási puffer
 - MiSeqDx reagens v3 kazetta

MEGJEGYZÉS: A könyvtárhígító puffer és a MiSeqDx reagens v3 kazetta csak egyszer használható, és legfeljebb egyszer, a megadott lejárati idő előtt, szobahőmérsékleten olvasztható fel. Felolvasztás után a reagenskazettát fel kell tölteni a mintakönyvtárral, és azonnal futtatni kell a MiSeqDx készüléken. Másik lehetőségként a felolvasztott reagenskazetta tárolható legfeljebb 6 óráig 2–8 °C hőmérsékleten, ezután fel kell tölteni a mintakönyvtárral, és azonnal futtatni kell a MiSeqDx készüléken.

- A következő reagensek hűtve kerülnek szállításra, és 2 °C és 8 °C között tárolva a feltüntetett lejárati időig stabilak.
 - MiSeqDx SBS oldat (PR2)
 - MiSeqDx áramlási cellaA MiSeqDx SBS oldat (PR2) és a MiSeqDx áramlási cella csak egyszeri használatra szolgál.
- A reagensek fizikai jellemzőinek megváltozása az anyagok romlását jelezheti. Ne használjon olyan reagenst, amelynek a fizikai jellemzői megváltoznak (például a színe jól látható módon megváltozik, vagy mikrobiológiai szennyeződésre utaló zavarosság látható).

Szükséges, de külön értékesített eszközök és anyagok

- **MiseqDx készülék**, katalógusszám: DX-410-1001

Figyelmeztetések és óvintézkedések



FIGYELEM!

Az USA szövetségi törvényei szerint e készülék csak orvos vagy az illető államban jóváhagyott szakember által vagy rendelvényére árusítható.



VIGYÁZAT!

Ezek a reagensek potenciálisan veszélyes vegyszereket tartalmaznak. Belégzésük, lenyelésük, bőrrel érintkezésük és szembe kerülésük esetén személyi sérülést okozhatnak. Viseljen védőfelszerelést, így védőszemüveget, kesztyűt és laborköpenyt a kockázat mértékének megfelelően. A használt reagenseket vegyi hulladékként kezelje, és a regionális, országos és helyi törvényeknek és előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa. További környezetvédelmi és munkavédelmi információkért tekintse meg a biztonsági adatlapot (SDS) a support.illumina.com/sds.html weboldalon.

(További információkért lásd a Reagensek fejezetet az 1. oldalon.)

- Az eljárások követésének elmulasztása hibás eredményeket vagy a minta minőségének jelentős romlását okozhatja.
- Használja a rutinszerű laboratóriumi óvintézkedéseket. Ne pipetázzon szájjal. Ne étkezzon, igyon vagy dohányozzon a munkaterületként megjelölt területeken. A minták és a vizsgálati reagensek kezelésekor viseljen eldobható kesztyűt és laborköpenyt. A minták és a vizsgálati reagensek kezelését követően alaposan mosson kezet.
- Megfelelő laboratóriumi gyakorlat és jó laboratóriumi higiénia szükséges annak megelőzéséhez, hogy a PCR-termékek szennyezzék a reagenseket, az eszközöket és a genomikus DNS-mintákat. A PCR-termékekkel való szennyeződés pontatlan és megbízhatatlan eredményeket okozhat.
- A szennyeződés elkerülése érdekében ügyeljen arra, hogy az amplifikáció előtti és az azutáni területeken külön berendezések legyenek (például pipetták, pipettahegyek, vortexelő és centrifuga).
- Az indexminták párosításának pontosan meg kell felelnie a kinyomtatott lemezelrendezésnek. A Local Run Manager automatikusan hozzárendeli az indexprimereket a mintanevekhez, ha azokat megadják a modulban. Ellenőrizze a mintákkal társított indexprimereket a szekvenálási futtatás indítása előtt. A kinyomtatott lemezelrendezés és a minta közötti eltérés esetén nem történik meg a pozitív minták azonosítása, és helytelen eredmények jelentése történik.
- A termékkel kapcsolatos súlyos eseményeket haladéktalanul jelentse az Illumina vállalatnak és a felhasználó és/vagy a páciens lakhelye szerinti tagállam illetékes hatóságának.

Használati útmutató

A készülék szoftverének az Ön országában kapható verzióját lásd a MiSeqDx készülék terméktájékoztatójában.

Teljesítményjellemzők

A készülék szoftverének az Ön országában kapható verzióját lásd a MiSeqDx készülék terméktájékoztatójában.

Módosítási előzmények

Dokumentum száma	Dátum	Módosítások leírása
Dokumentum száma 1000000030849 v04	2021. november	Az MiSeqDx készülék terméktájékoztatójában található referenciák frissítése. Az eljárás korlátai és a Figyelmeztetések és óvintézkedések fejezetek frissítése további magyarázatokkal. Kisebbségi módosítások az Illumina dokumentációs stílusának és szabványainak való megfelelés érdekében.
Dokumentum száma 1000000030849 v03	2021. augusztus	Az európai uniós meghatalmazott képviselő címének frissítése. Módosítási előzményeket tartalmazó táblázat hozzáadása.

Szabadalmak és védjegyek

A jelen dokumentum és annak tartalma az Illumina, Inc. és annak leányvállalatai („Illumina”) tulajdonát képezi, és kizárólag a jelen dokumentumban ismertetett termék(ek) szerződés szerű működtetéséhez használható. Egyéb célokra nem használható. A dokumentum és annak tartalma az Illumina előzetes írásos engedélye nélkül ettől eltérő célokra nem használható és forgalmazható, továbbá semmilyen formában nem kommunikálható, hozható nyilvánosságra vagy reprodukálható. Az Illumina a jelen dokumentummal nem biztosít licencet a termék vásárlójának a harmadik felek szabadalmi, védjegyjogi, szerzői jogi, szokásjogi vagy egyéb oltalom alatt álló jogosultságaihoz.

A jelen dokumentumban szereplő utasításokat a kvalifikált és megfelelően képzett személyzetnek szigorúan be kell tartania az itt ismertetett termék(ek) megfelelő és biztonságos használata érdekében. A termék(ek) használata előtt a felhasználó köteles átolvasni és értelmezni a jelen dokumentumban leírtakat.

AZ ITT SZEREPLŐ INFORMÁCIÓK ELOLVASÁSÁNAK VAGY AZ UTASÍTÁSOK BETARTÁSÁNAK ELMULASZTÁSA ESETÉN A TERMÉK(EK) MEGSÉRÜLHETNEK, ILLETVE SZEMÉLYI SÉRÜLÉS KÖVETKEZHET BE, IDEÉRTVE A FELHASZNÁLÓKAT ÉS MÁSOKAT IS, ILLETVE EGYÉB ANYAGI KÁROK KÖVETKEZHETNEK BE. EZENFELÜL ILYEN ESETEKBE A TERMÉK(EK)RE VONATKOZÓ GARANCIA ÉRVÉNYÉT VESZTI.

AZ ILLUMINA SEMMIFÉLE FELELŐSSÉGET NEM VÁLLAL AZ ITT BEMUTATOTT TERMÉK(EK) HELYTELEN HASZNÁLATÁBÓL FAKADÓ KÁROKÉRT (AZ ALKATRÉSZEKET ÉS A SZOFTVERT IS IDEÉRTVE).

© 2021 Illumina, Inc. Minden jog fenntartva.

Minden védjegy az Illumina, Inc., illetve az adott tulajdonosok tulajdonát képezi. A védjegyekkel kapcsolatos információkat lásd a www.illumina.com/company/legal.html oldalon.

Elérhetőségek



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (Észak-Amerikán kívül)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

Hollandia

Ausztrál szponzor

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Ausztrália

Termékcímke

A termék csomagolásán és címkéjén található szimbólumokkal kapcsolatos további információk az Ön készletére vonatkozóan a support.illumina.com weboldalon, a Szimbólumok magyarázata részben található.