

MiSeq™ Dx Reagent Kit v3

FÖR IN VITRO-DIAGNOSTISKT BRUK

Avsedd användning

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 är en uppsättning reagenser och förbrukningsmaterial som är avsedd för sekvensering av provbibliotek vid användning med validerade analyser. MiSeqDx Reagent Kit v3 är avsett för användning med MiSeqDx-instrumentet och analysprogramvara.

Grundläggande principer

Som indata använder MiSeqDx Reagent Kit v3 bibliotek som förberetts från DNA där provindex och infångade sekvenser läggs till mål. Provbibliotek fångas upp i en flödescell och sekvenseras av instrumentet med hjälp av SBS-kemi (sekvensering genom syntes). I SBS-kemi används en metod med reversibel terminator för att detektera fluorescensmärkta enkelnukleotidbaser medan de införlivas i växande DNA-strängar.

Anvisningar för sekvensering på MiSeqDx-instrumentet finns i bipacksedeln till MiSeqDx-instrumentet för din region och version av instruments programvara.

Begränsningar

- För *in vitro*-diagnostiskt bruk.
- Begränsningarna som beskrivs i den här bipacksedeln är baserade på representativa analyser och programvarumoduler, inklusive modulerna Germline Variant (Könscellsvariant) och Somatic Variant (Somatisk variant) i Local Run Manager, som utvecklades i syfte att utvärdera prestanda med representativa analyser.
- Läsningarna innehåller insertioner, deletioner eller en kombination av båda (s.k. "indels"). Innehåll som är längre än 25 baspar passas inte in av analysprogrammet. Det innebär att indels med en längd på > 25 baspar (bp) inte detekteras av analysprogrammet.
- Systemet har validerats för detektion av enkla nukleotida varianter (SNV:er) och upp till 25 bp-deletioner och 24 bp-insertioner när det används med modulerna Germline Variant (Könscellsvariant) och Somatic Variant (Somatisk variant). För somatisk bestämning med en variantfrekvens på 0,05 detekterades 25 bp-deletioner och 18 bp-insertioner.

- Analysprogrammet passar kanske inte in ampliconläsningar med extremt variantinnehåll, vilket medför att området rapporteras som vildtyp. Exempel på sådant extremt innehåll är:
 - Läsningar som innehåller fler än tre indels
 - Läsningar med en längd på minst 30 bp med > 4 % SNV-innehåll av den totala ampliconmåslängden (exklusive sondområden)
 - Läsningar med en längd på < 30 bp med ett SNV-innehåll på > 10 % av den totala ampliconlängden (inklusive sondområden)
- Större varianter, som multinukleotider (MNV:er) och större indels, kan komma att rapporteras som separata mindre varianter i VCF-utdatafilen.
- Deletionsvarianter kan filtreras eller missas när de sträcker sig över två överlappande ampliconer om deletionens längd är större än eller lika med överlappningen mellan ampliconerna.
- Systemet kan inte detektera indels om de angränsar direkt till en primer och det inte finns någon överlappande amplicon. För områden med överlappande ampliconer kan analysen inte detektera deletioner när området med överlappningen är mindre än den deletion som ska detekteras. Om exempelvis det överlappande området mellan två intilliggande ampliconer är två baser kan analysen inte detektera några deletioner som inkluderar båda de två baserna. En enbas-deletion vid endera av baserna kan detekteras.
- Liksom med alla hybridiseringsbaserade arbetsflöden för beredning av bibliotek kan underliggande polymorfismer, mutationer, insertioner eller deletioner i oligonukleotidbindande regioner påverka de alleler som undersöks och följaktligen de bestämningar som görs under sekvensering. Här följer några exempel:
 - En variant i fas med en variant i primerregionen amplificeras eventuellt inte, vilket ger ett falskt negativt resultat.
 - Varianter i primerregionen kan förhindra amplifiering av referensallelen, vilket medför en felaktig homozygot variantbestämning.
 - Indelvarianter i primerregionen kan orsaka en falsk positiv bestämning i slutet av läsningen bredvid primern.
- Indels kan filtreras på grund av strängbias om de finns nära slutet på en läsning och mjukklippas under inpassning.
- Små MNV:er har inte validerats och rapporteras enbart i modulen Somatic Variant (Somatisk variant).
- Deletioner rapporteras i VCF-filen vid den föregående basens koordinat enligt VCF-formatet. Därför bör angränsande varianter övervägas innan en enskild basbestämning rapporteras som homozygot referens.
- Könscells specifika begränsningar:
 - MiSeqDx-instrumentet, tillsammans med Local Run Manager-modulen Germline Variant (Könscellsvariant), är utformat för att ge kvalitativa resultat vid bestämning av könscellsvarianter (t.ex. homozygot, heterozygot eller vildtyp).

- Vid användning med modulen Germline Variant (Könscellsvariant) krävs en minsta täckning per amplicon på 150x för korrekt variantbestämning. Därmed krävs 150 stödjande DNA-fragment, vilket motsvarar 300 överlappande paired-end-läsningar. Antalet prover och det totala antalet målbaser påverkar täckningen. GC-innehåll och annat genomiskt innehåll kan påverka täckningen.
- Variation i antalet kopior kan påverka huruvida en variant identifieras som homozygot eller heterozygot.
- Varianter i vissa repetitiva sammanhang filtreras bort i VCF-filerna. RMxN-upprepningsfiltret används för att filtrera varianter om hela eller en del av variantsekvensen upprepas i referensgenomet som angränsar till variantens position. För bestämning av könscellvarianter krävs minst nio upprepningar i referensen för att en variant ska filtreras och endast upprepningar med en längd på upp till 5 bp beaktas (R5 x 9).
- Somaspecifika begränsningar:
 - MiSeqDx-instrumentet, tillsammans med Local Run Manager-modulen Somatic Variant (Somatisk variant), är utformat för att ge kvalitativa resultat vid bestämning av somatiska varianter (t.ex. bestämning av en somatisk variant med en variantfrekvens på $\geq 0,026$ med en detektionsgräns på 0,05).
 - Vid användning med modulen Somatic Variant (Somatisk variant) krävs en minsta täckning per amplicon på 450 x per oligonukleotidpool för korrekt variantbestämning. Därmed krävs 450 stödjande DNA-fragment per oligonukleotidpool, vilket motsvarar 900 överlappande paired-end-läsningar. Antalet prover och det totala antalet målbaser påverkar täckningen. GC-innehåll och annat genomiskt innehåll kan påverka täckningen.
 - För bestämning av somatiska varianter krävs minst sex upprepningar i referensen för att en variant ska filtreras och endast upprepningar med en längd på upp till 3 bp beaktas (R3 x 6).
 - Modulen Somatic Variant (Somatisk variant) kan inte skilja mellan könscellsvarianter och somatiska varianter. Modulen är utformad för att detektera varianter med ett antal olika variantfrekvenser, men variantfrekvens kan inte användas för att skilja mellan somatiska varianter och könscellsvarianter.
 - Normal vävnad i provet påverkar detekteringen av varianter. Den rapporterade detekteringsgränsen baseras på en variantfrekvens som förhåller sig till det totala DNA som extraheras från både tumörvävnad och normal vävnad.

Produktkomponenter

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3, katalognr 20037124, består av följande:

- Biblioteksspädningsbuffert, flödescell och post-amplifieringsreagenser

Reagenser som tillhandahålls

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 är en uppsättning reagenser och förbrukningsmaterial för engångsbruk för sekvensering av en körning av en eller flera provbibliotek i MiSeqDx-instrumentet. Antalet provbibliotek beror på vilken typ av multiplex som stöds av beredningsmetoden för biblioteket uppströms.

I följande tabeller finns en fullständig lista över reagenser som medföljer i kittet.

MiSeqDx Reagent Kit v3, förpackning 1

Tabell 1 Post-amplifieringsreagenser i förpackning 1

Komponent	Antal	Fyllnadsvolym	Aktiva ingredienser	Förvaring
Library Dilution Buffer	1 rör	4,5 ml	Buffrad vattenbaserad lösning	-25 °C till -15 °C
MiSeqDx Reagent v3 Cartridge (RFID-märkt)	1 st.	Varierar	Förfylld kassett för engångsbruk	-25 °C till -15 °C

MiSeqDx Reagent Kit v3, förpackning 2

Tabell 2 Post-amplifieringsreagenser i förpackning 2

Komponent	Antal	Fyllnadsvolym	Aktiva ingredienser	Förvaring
MiSeqDx SBS Solution (PR2) (RFID-märkt)	1 flaska	500 ml	Buffrad vattenbaserad lösning	2 °C till 8 °C
MiSeqDx Flow Cell (RFID-märkt)	1 st.	Ej tillämpligt	Paired-end-flödescell av glas för engångsbruk i buffrad vattenbaserad lösning	2 °C till 8 °C

Förvaring och hantering

- Rumstemperatur definieras som 15 °C till 30 °C.

- Följande reagenser levereras frysta och är stabila när de förvaras vid $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ till $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ fram till angivet utgångsdatum.
 - Library Dilution Buffer
 - MiSeqDx Reagent v3 Cartridge

OBS! Library Dilution Buffer och MiSeqDx Reagent v3 Cartridge är endast till för engångsbruk och är stabila tills de har tinats högst en gång i rumstemperatur före angivet utgångsdatum. När den har tinat måste reagenskassetten laddas med provbibliotek och omedelbart köras i MiSeqDx-instrumentet. Alternativt kan den tinade reagenskassetten förvaras vid $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ till $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ i upp till sex timmar och därefter laddas med provbibliotek och omedelbart köras i MiSeqDx-instrumentet.

- Följande reagenser levereras kylda och är stabila när de förvaras vid $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ till $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ fram till angivet utgångsdatum.
 - MiSeqDx SBS Solution (PR2)
 - MiSeqDx Flow CellMiSeqDx SBS Solution (PR2) och MiSeqDx Flow Cell är endast till för engångsbruk.
- Förändringar av reagensernas utseende kan indikera en försämring av materialens kvalitet. Använd inte reagenserna om förändringar av deras utseende observeras (t.ex. tydliga förändringar av reagensens färg eller grumlighet med uppenbar mikrobiell kontamination).

Nödvändig utrustning och nödvändigt material som säljs separat

- **MiseqDx-instrument**, katalognr DX-410-1001

Varningar och försiktighetsåtgärder



FÖRSIKTIGHET!

Enligt federal lag i USA får denna produkt endast säljas av eller på ordination av läkare eller övrig vårdpersonal som har licens i den delstat där han/hon är verksam och får använda eller ordinera användning av produkten.



WARNING!

Den här uppsättningen med reagenser innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laborierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser. Ytterligare information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.

(Se Reagenser på sida 1 för mer information.)

- Om procedurerna inte följs enligt givna anvisningar kan det leda till felaktiga resultat eller avsevärt försämrade provkvalitet.
- Arbeta enligt vedertagna laborierutiner. Använd inte pipetten med munnen. Ät inte, drick inte och rök inte på angivna arbetsområden. Använd engångshandskar och laborierock vid hantering av prov och analysreagenser. Tvätta händer noga efter att du hanterat prov och analysreagenser.
- God laboratoriesed och laborierhygien krävs för att förhindra att PCR-produkter kontaminerar reagenser, instrument och prover med genomiskt DNA. PCR-kontamination kan ge upphov till felaktiga och otillförlitliga resultat.
- För att undvika kontamination ska områdena före och efter amplifiering ha sin egen utrustning (t.ex. pipetter, pipettspetsar, vortexblandare och centrifug).
- Länkning av index och prov måste matcha den tryckta plattlayouten exakt. Local Run Manager fyller automatiskt i de indexprimrar som förknippas med provnamnen när de anges i modulen. Verifiera indexprimrarna som är associerade med proverna innan sekvenseringskörningen påbörjas. Bristande överensstämmelse mellan den tryckta plattlayouten och provet kommer att leda till förlust av positiv providentifikation och felaktigt rapportering av resultat.
- Rapportera omedelbart allvarliga händelser relaterade till den här produkten till Illumina och behörig myndighet i det land där användaren och/eller patienten befinner sig.

Bruksanvisning

Se bipacksedeln till MiSeqDx-instrumentet för din region och version av instruments programvara.

Prestandaegenskaper

Se bipacksedeln till MiSeqDx-instrumentet för din region och version av instruments programvara.

Revisionshistorik

Dokumentnr	Datum	Ändringsbeskrivning
Dokumentnr 1000000030849 v04	November 2021	Referenserna till bipacksedeln till MiSeqDx-instrumentet har uppdaterats. Avsnitten Begränsningar och Varningar och försiktighetsåtgärder har uppdaterats med ytterligare information. Mindre uppdateringar har gjorts för att uppfylla kraven på stil och standarder för Illumina-dokumentation.
Dokumentnr 1000000030849 v03	Augusti 2021	Adressen till den auktoriserade europeiska representanten har uppdaterats. Tabellen Revisionshistorik har lagts till.

Patent och varumärken

Dokumentet och dess innehåll tillhör Illumina, Inc. och dess dotterbolag ("Illumina") och är endast avsett för användning enligt avtal i samband med kundens bruk av produkterna som beskrivs häri. Allt annat bruk är förbjudet. Dokumentet och dess innehåll får ej användas eller distribueras i något annat syfte och/eller återges, delges eller reproduceras på något vis utan föregående skriftligt tillstånd från Illumina. I och med detta dokument överlåter Illumina inte någon licens som hör till dess patent, varumärke eller upphovsrätt, eller i enlighet med rättspraxis eller liknande tredjepartsrättigheter.

Instruktionerna i detta dokument ska följas till punkt och pricka av kvalificerad och lämpligt utbildad personal för att säkerställa rätt och säker produktanvändning i enlighet med beskrivning häri. Hela innehållet i dokumentet ska läsas och förstås i sin helhet innan produkten (produkterna) används.

UNDERLÅTENHET ATT LÄSA OCH FÖLJA ALLA INSTRUKTIONER HÄRI I SIN HELHET KAN MEDFÖRA SKADA PÅ PRODUKTEN/PRODUKTERNA, PERSONSKADA, INKLUSIVE SKADA PÅ ANVÄNDAREN/ANVÄNDARNA ELLER ANDRA PERSONER SAMT SKADA PÅ ANNAN EGENDOM, OCH LEDER TILL ATT EVENTUELL GARANTI FÖR PRODUKTEN/PRODUKTERNA BLIR OGILTIG.

ILLUMINA KAN INTE ÅLÄGGAS NÅGOT ANSVAR SOM UPPKOMMER GENOM FELAKTIG ANVÄNDNING AV PRODUKTERNA SOM BESKRIVS HÄRI (INKLUSIVE DELAR DÄRI ELLER PROGRAM).

© 2021 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

Alla varumärken tillhör Illumina, Inc. eller respektive ägare. Specifik varumärkesinformation finns på www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktinformation



Illumina

5200 Illumina Way

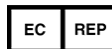
San Diego, California 92122 USA

+1 800-8094566

+1 858-2024566 (utanför Nordamerika)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

Nederländerna

Australiensisk sponsor

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Australien

Märkning av produkter

En fullständig lista över symbolerna på produktens förpackning och etiketter finns i symbolförklaringen för din sats på support.illumina.com.