

MiSeq™ Dx Reagent Kit v3

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK

Tiltenkt bruk

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 er et sett med reagenser og forbruksvarer beregnet for sekvensering av prøvebiblioteker når de brukes sammen med godkjente analyser. MiSeqDx Reagent Kit v3 er beregnet for bruk med MiSeqDx-instrumentet og analytisk programvare.

Prosedyreprinsipper

For inndata bruker MiSeqDx Reagent Kit v3 biblioteker klargjort fra DNA der prøveindekser og innfangingssekvenser blir lagt til mål. Prøvebiblioteker blir innfanget på en strømningscelle og sekvensert på instrumentet ved hjelp av sekvensering ved syntesekjemi (SBS). SBS-kjemi bruker en reversibel terminator metode for å påvise fluorescensmerkede, enkle nukleotidbaser idet de blir inkorporert i voksende DNA-strenger.

Se pakningsvedlegget for MiSeqDx-instrumentet som gjelder for din region, samt riktig versjon av instrumentets programvare, når du skal gjennomgå instruksjoner for å utføre sekvensering på MiSeqDx-instrumentet.

Prosedyremessige begrensninger

- Til *in vitro*-diagnostisk bruk.
- Begrensninger angitt i dette pakningsvedlegget er basert på representative analyser og programvaremoduler, inkludert Local Run Manager for kimlinjevariant og somatisk variant , som ble utviklet for å evaluere ytelsen med representative analyser.
- Avlesninger inneholder insersjoner, delesjoner eller kombinasjoner av disse (indeler). Lengdeinnhold >25 bp er ikke justert av analyseprogramvaren. Derfor kan indeler med en lengde på >25 basepar (bp) ikke påvises av analyseprogrammet.
- Systemet er validert for påvisning av enkle nukleotidvarianter (SNV) og opptil 25 bp delesjoner og 24 bp insersjoner når det brukes med programvare for Germline og Somatic Variant-moduler. For somatisk betegnelse ved en variantfrekvens på 0,05 ble 25 bp delesjoner og 18 bp insersjoner påvist.

- Analyseprogrammet innretter kanskje ikke PCR-produktavlesinger med ekstremt variantinnhold, noe som resulterer i at regionen blir rapportert som villtype. Slikt ekstremt innhold omfatter:
 - Avlesninger som inneholder mer enn tre indeler
 - avlesninger med lengde på minst 30 bp med SNV-innhold på >4 % av den totale PCR-produktmållengden (unntatt probeområder)
 - avlesninger med lengde på <30 bp med SNV-innhold på >10 % av den totale PCR-produktlengden (inkludert probeområder)
- Store varianter, deriblant multinukleotidvarianter (MNV-er) og store indeler, kan rapporteres som separate mindre varianter i utdata-VCF-filen.
- Delesjonsvarianter kan filtreres eller utelates når de spenner over to sidestilte PCR-produkter, dersom delesjonslengden er større enn eller lik overlappingen mellom de sidestilte PCR-produktene.
- Systemet kan ikke påvise indeler hvis de oppstår rett ved siden av en primer og det ikke er noe overlappende PCR-produkt. For områder med overlappende PCR-produkter kan ikke analysen påvise slettinger når overlappingsområdet er mindre enn størrelsen på slettingen som skal påvises. Hvis for eksempel overlappingsområdet mellom to tilstøtende PCR-produkter er to baser, kan analysen ikke påvise delesjoner som inkluderer begge disse basene. En enkelt basesletting på én av disse basene kan påvises.
- Som ved alle hybridiseringsbaserte arbeidsprosesser for bibliotekklargjøring kan underliggende polymorfismer eller mutasjoner, innsettinger eller slettinger i oligonukleotidbindende områder påvirke allelene som sonderes, og derfor også betegnelsene som utføres under sekvensering. Eksempel:
 - En variant i fase med en variant i primerområdet kan ikke forsterkes, noe som resulterer i en falsk negativ.
 - Varianter i primerområdet kan forhindre forsterkningen av referanseallelen, noe som resulterer i feil homozygot variantbetegnelse.
 - Indelvarianter i primerområdet kan forårsake en falskt positiv betegnelse på slutten av avlesningen ved siden av primeren.
- Indeler kan filtreres på grunn av strengeavvik hvis de forekommer nær enden av en avlesning og blir «soft-clipped» under innretting.
- Små MNV-er har ikke blitt validert og rapporteres kun i Somatic Variant-modulen.
- Slettinger rapporteres i VCF ved koordinaten til den foregående basen etter VCF-format. Derfor bør det vurderes tilstøtende varianter før rapportering om at en individuell basebetegnelse er homozygot referanse.
- Germline-spesifikke begrensninger:
 - MiSeqDx-instrumentet som bruker Local Run Manager Germline Variant-modul, er utviklet for å levere kvalitative resultater for kimbanevariantbetegnelser (f.eks. homozygot, heterozygot, villtype).

- Ved bruk med Germline Variant-modulen er minimum dekning per PCR-produkt som er nødvendig for nøyaktig variantbetegnelse, 150x. Dermed kreves 150 støttende DNA-fragmenter, noe som tilsvarer 300 overlappende paired-end-avlesinger. Antall prøver og det totale antallet baser som er målrettet, påvirker dekningen. GC-innhold og annet genomisk innhold kan påvirke dekning.
- Variasjon i kopinumner kan påvirke om en variant identifiseres som homozygot eller heterozygot.
- Varianter i en viss gjentakende kontekst filtreres ut i VCF-filene. RMxN-gjentakelsesfilteret brukes til å filtrere varianter dersom hele eller deler av variantsekvensen er til stede gjentatte ganger i referansegnetomet ved siden av variantposisjonen. For en kimlinjevariantbetegnelse er det nødvendig med minst ni repetisjoner i referansen for at en variant skal filtreres, og bare repetisjoner med en lengde på opptil 5 bp vurderes (R5x9).
- Somatisk spesifikke begrensninger:
 - MiSeqDx-instrumentet som bruker Local Run Manager Somatic Variant-modul, er designet for å levere kvalitative resultater for somatisk variantbetegnelse (f.eks. tilstedeværelse av en somatisk variant med en variantfrekvens på $\geq 0,026$ med en deteksjonsgrense på 0,05).
 - Ved bruk med Somatic Variant-modulen er minimum dekning per PCR-produkt som er nødvendig for nøyaktig variantbetegnelse, 450x per oligonukleotidsammenslåing. Dermed kreves 450 støttende DNA-fragmenter per oligonukleotidsammenslåing, noe som tilsvarer 900 overlappende paired-end-avlesinger. Antall prøver og det totale antallet baser som er målrettet, påvirker dekningen. GC-innhold og annet genomisk innhold kan påvirke dekning.
 - For en somatisk variantbetegnelse er det nødvendig med minst seks repetisjoner i referansen for at varianten skal filtreres, og bare repetisjoner med en lengde på opptil 3 bp vurderes (R3x6).
 - Den somatiske variantmodulen kan ikke skille mellom kimlinjevarianter og somatiske varianter. Modulen er utformet for å påvise varianter over en rekke variantfrekvenser, men variantfrekvens kan ikke brukes til å skille mellom somatiske varianter og kimlinjevarianter.
 - Normalt vev i prøven påvirker påvisningen av varianter. Den rapporterte påvisningsgrensen er basert på en variantfrekvens i forhold til det totale DNA-et som ekstraheres fra både tumor og normalt vev.

Produktkomponenter

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3, katalognr. 20037124 består av følgende:

- bibliotekfortynningsbuffer, strømningscelle og post-amp-reagenser

Reagenser som følger med

ILLUMINA MiSeqDx Reagent Kit v3 er et sett med reagenser og forbruksvarer til engangsbruk som skal brukes til sekvensering av én kjøring på ett eller flere prøvebiblioteker på MiSeqDx-instrumentet. Antallet prøvebiblioteker er avhengig av multipleksingen som støttes av oppstrøms biblioteksklargjøringsmetode.

Se følgende tabeller for en komplett liste over reagenser dette settet inneholder.

MiSeqDx Reagent Kit v3, boks 1

Tabell 1 Boks 1 postforsterkningsreagenser

Komponent	Kvantitet	Fyllingsvolum	Aktive ingredienser	Oppbevaring
Bibliotekfortynningsbuffer	1 rør	4,5 ml	Bufret vandig løsning	-25 °C til -15 °C
MiSeqDx Reagent v3-kassett (RFID-merket)	1 hver	Varierer	Ferdigfylt kassett til engangsbruk	-25 °C til -15 °C

MiSeqDx Reagent Kit v3, boks 2

Tabell 2 Boks 2 postforsterkningsreagenser

Komponent	Kvantitet	Fyllingsvolum	Aktive ingredienser	Oppbevaring
MiSeqDx SBS-oppløsning (PR2) (RFID-merket)	1 flaske	500 ml	Bufret vandig løsning	2 °C til 8 °C
MiSeqDx strømningsselle (RFID-merket)	1 hver	N/A	Paired-end glasstrømningsselle til engangsbruk i bufret vandig løsning	2 °C til 8 °C

Oppbevaring og håndtering

- Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.
- Følgende reagenser blir levert i frossen tilstand og er stabile når de lagres ved -25 °C til -15 °C inntil den angitte utløpsdatoen.
 - Bibliotekfortynningsbuffer
 - MiSeqDx Reagent v3-kassett

MERK: Bibliotekfortynningsbufferen og MiSeqDx Reagent v3-kassetten er kun til engangsbruk og er stabile i maks. én tinesyklus til romtemperatur før angitt utløpsdato. Når reagenskassetten er tint, må reagenskassetten settes inn sammen med prøvebiblioteket og kjøres umiddelbart på MiSeqDx-instrumentet. Den tinte reagenskassetten kan alternativt oppbevares ved 2 °C til 8 °C i opptil 6 timer, og deretter settes inn sammen med prøvebiblioteket og kjøres umiddelbart på MiSeqDx-instrumentet.

- Følgende reagenser blir levert nedkjølte og er stabile når de oppbevares ved 2 °C til 8 °C inntil den angitte utløpsdatoen.
 - MiSeqDx SBS-oppløsning (PR2)
 - MiSeqDx-strømningscelleMiSeqDx SBS-oppløsning (PR2) og MiSeqDx-strømningscelle er kun til engangsbruk.
- Endringer i reagensenes fysiske utseende kan indikere nedbryting av materialene. Hvis det forekommer endringer i det fysiske utseendet (for eksempel åpenbare endringer i reagensfarge eller uklarhet sammen med mikrobiell kontaminasjon), skal ikke reagensene brukes.

Nødvendig utstyr og materialer selges separat

- **MiseqDx Instrument**, katalognr. DX-410-1001

Advarsler og forholdsregler



FORSIKTIG

Føderal lov begrenser denne enheten til salg av, eller på bestilling av, en lege eller annet fagpersonell, lovmessig lisensiert i staten vedkommende praktiserer, for å bruke eller pålegge bruk av enheten.



ADVARSEL

Dette reagenssettet inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter. Hvis du ønsker ytterligere informasjon om helse, miljø og sikkerhet, kan du se sikkerhetsdatabladene (SDS) på support.illumina.com/sds.html.

(Du finner mer informasjon under Reagenser på side 1.)

- Hvis du unnlater å følge prosedyrene som beskrevet, kan det resultere i feil resultater eller betydelig reduksjon i prøve kvaliteten.
- Bruk rutinemessige forholdsregler for laboratoriet. Ikke pipetter med munnen. Ikke spis, drikk eller røyk i utpekte arbeidsområder. Bruk engangshansker og laboratoriefrakker når du håndterer prøver og analysereagenser. Vask hendene grundig etter å ha håndtert prøvene og analysereagensene.
- Riktig laboratoriepraksis og god laboratoriehygiene er nødvendig for å forhindre at PCR-produkter kontaminerer reagenser, instrumentering og genomiske DNA-prøver. PCR-kontaminasjon kan medføre unøyaktige og upålitelige resultater.
- For å hindre kontaminasjon må du kontrollere at preforsterknings- og postforsterkningsområdene har sitt eget utstyr (som dråpetellere, dråpetellerspisser, roterer og sentrifuge).
- Indeks-prøvesammenkobling må være i nøyaktig samsvar med trykt plateoppsett. Local Run Manager fyller automatisk ut indeksprimerne som er tilknyttet prøvenavnene, når de er angitt i modulen. Verifiser indeksprimerne som er tilknyttet prøvene før sekvenseringskjøringen startes. Misforhold mellom utskrevet plateoppsett og prøve vil føre til tap av positiv prøveidentifikasjon og uriktig resultatrapportering.
- Alvorlige uønskede hendelser knyttet til dette produktet skal umiddelbart rapporteres til Illumina og ansvarlige myndigheter i medlemslandet der brukeren og/eller pasienten befinner seg.

Bruksanvisning

Se pakningsvedlegget for MiSeqDx-instrumentet som gjelder for din region, samt riktig versjon av instrumentets programvare.

Ytelseskarakteristikker

Se pakningsvedlegget for MiSeqDx-instrumentet som gjelder for din region, samt riktig versjon av instrumentets programvare.

Revisjonshistorikk

Dokumentnr.	Dato	Beskrivelse av endring
Dokumentnr. 1000000030849 v04	November 2021	Oppdaterte referanser til pakningsvedlegg for MiSeqDx-instrumentet. Oppdaterte begrensninger for prosedyre og advarsler og sikkerhetstiltak med ekstra tydeliggjøringer. Mindre oppdateringer for å tilpasse til Illuminas dokumenteringsstil og standarder.
Dokumentnr. 1000000030849 v03	August 2021	Oppdatert adresse for EU-autorisert representant. La til tabell for revisjonslogg.

Patenter og varemerker

Dette dokumentet og dets innhold er opphavsrettslig beskyttet for Illumina, Inc. og tilknyttede selskaper («Illumina»), og er ment utelukkende for kontraktbruk av kunden i forbindelse med bruk av produktet (produktene) beskrevet her, og for intet annet formål. Dette dokumentet og dets innhold skal ikke brukes eller distribueres til andre formål og/eller på annen måte kommuniseres, fremlegges eller reproduseres på noen måte uten forutgående, skriftlig samtykke fra Illumina. Illumina overfører ikke noen lisens under sitt patent, varemerke, opphavsrett eller sedvanerett eller lignende rettigheter til tredjeparter gjennom dette dokumentet.

Instruksjonene i dette dokumentet skal følges strengt og tydelig av kvalifisert og tilfredsstillende utdannet personell for å sikre riktig og sikker bruk av produktet (produktene) som er beskrevet i dette dokumentet. Alt innhold i dette dokumentet skal leses fullt ut og være forstått før produktet (produktene) brukes.

HVIS DET UNNLATES Å LESE FULLSTENDIG OG UTTRYKkelig FØLGE ALLE INSTRUKSJONENE I DETTE DOKUMENTET, KAN DET FØRE TIL SKADE PÅ PRODUKTET (PRODUKTENE), SKADE PÅ PERSONER, INKLUDERT BRUKERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANNEN EIENDOM, OG DETTE VIL UGYLDIGGJØRE EVENTUELL GARANTI SOM GJELDER FOR PRODUKTET (PRODUKTENE).

ILLUMINA PÅTAR SEG IKKE ANSVAR SOM FØLGE AV FEIL BRUK AV PRODUKTET (PRODUKTENE) SOM ER BESKREVET I DETTE DOKUMENTET (INKLUDERT DELER AV DETTE ELLER PROGRAMVARE).

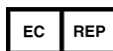
© 2021 Illumina, Inc. Med enerett.

Alle varemerker tilhører Illumina, Inc. eller deres respektive eiere. Ytterligere informasjon om varemerker finner du på www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktinformasjon



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California, 92122 USA
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (utenfor Nord-Amerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Australsk sponsor

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

Produktmerking

Du finner en fullstendig liste over og forklaring på symboler som kan stå på produktemballasjen og i dokumentasjonen for settet du har, på support.illumina.com.