

Bộ kit MiSeq™Dx Reagent v3

DÙNG CHO CHẨN ĐOÁN TRONG ỐNG NGHIỆM

Mục đích sử dụng

Bộ kit Illumina MiSeqDx Reagent v3 là một bộ thuốc thử và vật tư tiêu hao dùng để giải trình tự thư viện mẫu khi được sử dụng kết hợp với các xét nghiệm đã được kiểm nhận. Bộ kit thuốc thử MiSeqDx v3 được thiết kế để sử dụng kết hợp với thiết bị MiSeqDx và phần mềm phân tích.

Nguyên tắc của quy trình

Đối với đầu vào, Bộ kit thuốc thử MiSeqDx v3 sử dụng thư viện đã chuẩn bị từ DNA trong đó chỉ thị mẫu và trình tự thu thập được thêm vào mục tiêu. Thư viện mẫu được thu thập trên tế bào dòng chảy và giải trình tự trên thiết bị nhờ công nghệ hóa học giải trình tự theo nguyên lý tổng hợp (SBS). Công nghệ hóa học SBS sử dụng phương pháp vùng kết thúc thuận nghịch để phát hiện các base nucleotide đơn lẻ đã gắn nhãn huỳnh quang khi các base này được kết hợp vào các sợi DNA đang phát triển.

Để biết cách tiến hành giải trình tự trên thiết bị MiSeqDx, hãy xem Tờ hướng dẫn sử dụng thiết bị MiSeqDx dành cho khu vực của bạn và phiên bản phần mềm thiết bị bạn sử dụng.

Giới hạn của quy trình

- Dùng cho chẩn đoán *trong ống nghiệm*.
- Các quy định giới hạn nêu trong tờ hướng dẫn sử dụng này dựa trên các xét nghiệm đại diện và mô-đun phần mềm, bao gồm Mô-đun biến thể dòng mầm và Mô-đun biến thể sinh dưỡng của Local Run Manager (Trình quản lý lần chạy cục bộ). Các mô-đun này được phát triển nhằm mục đích đánh giá hiệu suất cùng với các xét nghiệm đại diện.
- Các đoạn đọc chứa vùng chèn, vùng xóa hoặc vùng kết hợp (indel).
Phần mềm xét nghiệm không so khớp thành phần có độ dài lớn hơn 25 bp. Do đó, phần mềm xét nghiệm không phát hiện được các indel có độ dài lớn hơn 25 cặp base (bp).
- Theo kết quả kiểm nhận, hệ thống có khả năng phát hiện các biến thể nucleotide đơn (SNV), vùng xóa có kích thước tối đa 25 bp và vùng chèn có kích thước tối đa 24 bp khi được sử dụng kết hợp với phần mềm mô-đun Biến thể dòng mầm và sinh dưỡng. Đối với phát hiện sinh dưỡng, ở tần số biến thể 0,05, vùng xóa 25 bp và vùng chèn 18 bp đã được phát hiện.

- Phần mềm xét nghiệm có thể không so khớp đoạn đọc amplicon có thành phần biến thể cục hạn, dẫn đến việc vùng đó được báo cáo là thể dại. Các thành phần cục hạn này bao gồm:
 - Đoạn đọc chứa nhiều hơn ba indel
 - Đoạn đọc có độ dài tối thiểu 30 bp với hàm lượng SNV lớn hơn 4% tổng độ dài mục tiêu amplicon (không bao gồm các vùng thăm dò)
 - Đoạn đọc có độ dài dưới 30 bp với hàm lượng SNV lớn hơn 10% tổng độ dài amplicon (bao gồm các vùng thăm dò)
- Biến thể lớn, bao gồm các biến thể đa nucleotide (MNV) và các indel lớn, có thể được báo cáo là các biến thể nhỏ hơn riêng biệt trong tệp VCF đầu ra.
- Các biến thể xóa có thể bị lọc ra hoặc bỏ sót khi mở rộng hai amplicon dạng ô nếu độ dài vùng xóa lớn hơn hoặc bằng vùng chồng lấn giữa các amplicon dạng ô.
- Hệ thống không thể phát hiện indel nếu các biến thể này xảy ra ngay liền kề mỗi và không có amplicon chồng lấn. Đối với các vùng có amplicon chồng lấn, xét nghiệm không thể phát hiện vùng xóa khi vùng chồng lấn nhỏ hơn kích thước vùng xóa cần phát hiện. Ví dụ: nếu vùng chồng lấn giữa hai amplicon liền kề là hai base, xét nghiệm sẽ không thể phát hiện vùng xóa nào bao gồm cả hai base đó. Có thể phát hiện một vùng xóa base duy nhất tại một trong hai base đó.
- Như với bất kỳ quy trình chuẩn bị thư viện dựa trên quá trình tạo thể lai nào, các đa hình cơ bản, đột biến, vùng chèn hoặc xóa trong các vùng gắn kết oligonucleotide có thể ảnh hưởng đến các alen được thăm dò và theo đó là các kết quả phát hiện trong khi giải trình tự. Ví dụ:
 - Một biến thể cùng pha với một biến thể trong vùng mồi có thể không được khuếch đại, dẫn đến trường hợp âm tính giả.
 - Các biến thể trong vùng mồi có thể ngăn cản sự khuếch đại của alen tham chiếu, dẫn đến phát hiện biến thể đồng hợp tử không chính xác.
 - Các biến thể indel trong vùng mồi có thể dẫn đến phát hiện dương tính giả ở cuối đoạn đọc liền kề với mồi.
- Xét nghiệm có thể lọc các indel do sai lệch sợi nếu các biến thể này xảy ra gần cuối một đoạn đọc và bị cắt mềm trong quá trình so khớp.
- MNV nhỏ chưa được kiểm nhận và chỉ được báo cáo trong Mô-đun biến thể sinh dưỡng.
- Các vùng xóa được báo cáo trong VCF tại tọa độ của base nằm trước theo định dạng VCF. Do đó, hãy xem xét các biến thể liền kề trước khi báo cáo phát hiện base riêng lẻ là tham chiếu đồng hợp tử.
- Các giới hạn dành riêng cho dòng mầm:
 - Thiết bị MiSeqDx, sử dụng Mô-đun biến thể dòng mầm của Local Run Manager (Trình quản lý lần chạy cục bộ), được thiết kế để cung cấp kết quả định tính cho phát hiện biến thể dòng mầm (ví dụ: đồng hợp tử, dị hợp tử, thể dại).
 - Khi được sử dụng với Mô-đun biến thể dòng mầm, phạm vi tối thiểu cần thiết trên mỗi amplicon để phát hiện biến thể chính xác là 150x. Do đó, cần có 150 phân đoạn DNA hỗ trợ, tương đương với 300 đoạn đọc kết đôi chồng lấn. Số lượng mẫu và tổng số base nhằm mục tiêu sẽ ảnh hưởng đến phạm vi. Hàm lượng GC và hàm lượng hệ gen khác có thể ảnh hưởng đến phạm vi.

- Sự thay đổi số lượng bản sao có thể ảnh hưởng đến việc xác định một biến thể là đồng hợp tử hay dị hợp tử.
- Các biến thể trong trường hợp lặp lại nhất định được lọc ra khỏi các tệp VCF. Bộ lọc lặp lại RMxN được sử dụng để lọc biến thể nếu tất cả hoặc một phần trình tự biến thể xuất hiện lặp đi lặp lại trong hệ gen tham chiếu liên kề với vị trí biến thể. Đối với phát hiện biến thể dòng mầm, cần ít nhất 9 trình tự lặp lại trong tham chiếu để lọc biến thể và chỉ xét những trình tự lặp lại có độ dài tối đa 5 bp (R5x9).
- Các giới hạn dành riêng cho sinh dưỡng:
 - Thiết bị MiSeqDx, sử dụng Mô-đun biến thể sinh dưỡng của Local Run Manager (Trình quản lý lần chạy cục bộ), được thiết kế để cung cấp kết quả định tính cho phát hiện biến thể sinh dưỡng (ví dụ: sự hiện diện của một biến thể sinh dưỡng có tần số biến thể lớn hơn hoặc bằng 0,026 với giới hạn phát hiện là 0,05).
 - Khi được sử dụng với Mô-đun biến thể sinh dưỡng, phạm vi tối thiểu cần thiết trên mỗi amplicon để phát hiện biến thể chính xác là 450x trên mỗi nhóm gộp oligonucleotide. Do đó, cần có 450 phân đoạn DNA hỗ trợ trên mỗi nhóm gộp oligonucleotide, tương đương với 900 đoạn đọc kết đôi chồng lấn. Số lượng mẫu và tổng số base nhằm mục tiêu sẽ ảnh hưởng đến phạm vi. Hàm lượng GC và hàm lượng hệ gen khác có thể ảnh hưởng đến phạm vi.
 - Đối với phát hiện biến thể sinh dưỡng, cần ít nhất 6 trình tự lặp lại trong tham chiếu để lọc biến thể và chỉ xét những trình tự lặp lại có độ dài tối đa 3 bp (R3x6).
 - Mô-đun biến thể sinh dưỡng không thể phân biệt giữa biến thể dòng mầm và sinh dưỡng. Mô-đun này được thiết kế để phát hiện các biến thể trên một loạt các tần số biến thể, nhưng không thể sử dụng tần số biến thể để phân biệt các biến thể sinh dưỡng với các biến thể dòng mầm.
 - Mô bình thường trong mẫu xét nghiệm ảnh hưởng đến việc phát hiện các biến thể. Giới hạn phát hiện được báo cáo dựa trên tần số biến thể liên quan đến tổng số DNA tách chiết từ cả mô khối u và mô bình thường.

Thành phần sản phẩm

Bộ kit Illumina MiSeqDx Reagent v3, Danh mục số 20037124 bao gồm:

- Dung dịch đệm pha loãng thư viện, tế bào dòng chảy và thuốc thử hậu khuếch đại

Các thuốc thử được cung cấp

Bộ kit thuốc thử Illumina MiSeqDx v3 là một bộ thuốc thử và vật tư tiêu hao dùng một lần cho một lần chạy giải trình tự của một hoặc nhiều thư viện mẫu trên thiết bị MiSeqDx. Số lượng thư viện mẫu phụ thuộc vào cấp độ ghép kênh mà phương thức chuẩn bị thư viện ngược hướng hỗ trợ.

Xem các bảng sau đây để biết danh sách đầy đủ các thuốc thử được cung cấp trong bộ kit này.

Bộ kit thuốc thử MiSeqDx v3, hộp 1

Bảng 1 Thuốc thử hậu khuếch đại hộp 1

Thành phần	Số lượng	Thể tích đóng gói	Thành phần hoạt tính	Bảo quản
Dung dịch đệm pha loăng thư viện	1 ống	4,5 ml	Dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C
Hộp thuốc thử MiSeqDx v3 (Ghi nhãn RFID)	1 cho mỗi hộp	Có nhiều mức	Hộp nạp sẵn dùng một lần	-25°C đến -15°C

Bộ kit thuốc thử MiSeqDx v3, hộp 2

Bảng 2 Thuốc thử hậu khuếch đại hộp 2

Thành phần	Số lượng	Thể tích đóng gói	Thành phần hoạt tính	Bảo quản
Dung dịch SBS MiSeqDx (PR2) (Ghi nhãn RFID)	1 chai	500 ml	Dung dịch nước đệm	2°C đến 8°C
Tế bào dòng chảy MiSeqDx (Ghi nhãn RFID)	1 cho mỗi hộp	Không áp dụng	Tế bào dòng chảy thủy tinh, kết đôi, dùng một lần trong dung dịch nước đệm	2°C đến 8°C

Bảo quản và xử lý

- Nhiệt độ phòng là khoảng nhiệt độ từ 15°C đến 30°C.
- Các thuốc thử sau đây được vận chuyển đông lạnh và ổn định khi được bảo quản ở nhiệt độ từ -25°C đến -15°C cho đến ngày hết hạn theo quy định.
 - Dung dịch đệm pha loăng thư viện
 - Hộp thuốc thử MiSeqDx v3

LƯU Ý: Dung dịch đệm pha loăng thư viện và Hộp thuốc thử MiSeqDx v3 là vật tư chỉ dùng một lần và ổn định trong tối đa một lần rã đông về nhiệt độ phòng trước ngày hết hạn theo quy định. Sau khi rã đông, hộp thuốc thử phải được nạp thư viện mẫu và đưa vào chạy ngay lập tức trên thiết bị MiSeqDx. Hoặc, bạn cũng có thể bảo quản hộp thuốc thử đã rã đông ở nhiệt độ từ 2°C đến 8°C trong tối đa 6 giờ, sau đó nạp thư viện mẫu và đưa vào chạy ngay lập tức trên thiết bị MiSeqDx.

- Các thuốc thử sau đây được vận chuyển ở trạng thái làm lạnh và ổn định khi được bảo quản ở nhiệt độ từ 2°C đến 8°C cho đến ngày hết hạn theo quy định.
 - Dung dịch SBS MiSeqDx (PR2)
 - Tế bào dòng chảy MiSeqDxDung dịch SBS MiSeqDx (PR2) và Tế bào dòng chảy MiSeqDx là vật tư chỉ dùng một lần.
- Những thay đổi về hình thức bên ngoài của thuốc thử có thể cho thấy dấu hiệu vật liệu bị hư hỏng. Nếu có các thay đổi về hình thức bên ngoài (ví dụ: màu sắc của thuốc thử thay đổi rõ ràng hoặc thuốc thử bị vẩn đục rõ ràng do nhiễm vi sinh vật), không được sử dụng thuốc thử.

Thiết bị và các vật liệu cần tự chuẩn bị, bán riêng

- **Thiết bị MiSeqDx**, danh mục số DX-410-1001

Cảnh báo và biện pháp phòng ngừa



THẬN TRỌNG

Luật liên bang chỉ cho phép thiết bị này được bán bởi hoặc theo yêu cầu của bác sĩ hoặc bác sĩ hành nghề khác được cấp phép theo luật của Tiểu bang nơi bác sĩ đó hành nghề, sử dụng hoặc yêu cầu sử dụng thiết bị.



CẢNH BÁO

Bộ thuốc thử này chứa các hóa chất độc hại tiềm ẩn. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy xem bảng dữ liệu an toàn (SDS) tại địa chỉ support.illumina.com/sds.html.

(Xem mục Thuốc thử trên trang 1 để biết thêm thông tin.)

- Việc không tuân thủ các quy trình đã nêu có thể dẫn đến kết quả sai hoặc chất lượng mẫu giảm sút đáng kể.

- Sử dụng các biện pháp phòng ngừa thường quy của phòng thí nghiệm. Không dùng pipet bằng miệng. Không ăn uống hoặc hút thuốc trong khu vực làm việc được chỉ định. Đeo găng tay và mặc áo khoác phòng thí nghiệm dùng một lần khi xử lý các mẫu xét nghiệm và thuốc thử xét nghiệm. Rửa tay kỹ càng sau khi xử lý các mẫu xét nghiệm và thuốc thử xét nghiệm.
- Yêu cầu áp dụng phương pháp thực hành trong phòng thí nghiệm thích hợp và vệ sinh trong phòng thí nghiệm sạch sẽ để ngăn chặn các sản phẩm PCR làm nhiễm bẩn thuốc thử, thiết bị đo và mẫu DNA hệ gen. Tình trạng nhiễm bẩn PCR có thể khiến cho kết quả không chính xác và không đáng tin cậy.
- Để tránh tình trạng nhiễm bẩn, hãy đảm bảo rằng khu vực tiền khuếch đại và hậu khuếch đại có thiết bị chuyên dụng (ví dụ: pipet, đầu pipet, máy trộn mẫu và máy ly tâm).
- Việc ghép cặp mẫu-chỉ thị phải khớp chính xác với cách bố trí khay đã in. Local Run Manager (Trình quản lý lần chạy cục bộ) tự động điền các mồi chỉ thị liên kết với tên mẫu khi tên mẫu được nhập vào mô-đun. Xác minh mồi chỉ thị liên kết với mẫu trước khi bắt đầu chạy giải trình tự. Mẫu không khớp với cách bố trí khay đã in sẽ dẫn đến việc mất khả năng nhận dạng mẫu dương tính và báo cáo kết quả không chính xác.
- Báo cáo ngay mọi sự cố nghiêm trọng liên quan đến sản phẩm này cho Illumina và Cơ quan có thẩm quyền của Quốc gia thành viên nơi người dùng và/hoặc bệnh nhân cư trú.

Hướng dẫn sử dụng

Xem Tờ hướng dẫn sử dụng thiết bị MiSeqDx dành cho khu vực của bạn và phiên bản phần mềm thiết bị bạn sử dụng.

Đặc điểm hiệu suất

Xem Tờ hướng dẫn sử dụng thiết bị MiSeqDx dành cho khu vực của bạn và phiên bản phần mềm thiết bị bạn sử dụng.

Lịch sử sửa đổi

Số tài liệu	Ngày	Mô tả thay đổi
Số tài liệu 1000000030849 v04	Tháng 11 năm 2021	Cập nhật tài liệu tham khảo cho Tờ hướng dẫn sử dụng thiết bị MiSeqDx. Cập nhật phần Các giới hạn của quy trình và phần Cảnh báo và biện pháp phòng ngừa (làm rõ thêm). Cập nhật một số chi tiết nhỏ cho phù hợp với văn phong và tiêu chuẩn về tài liệu hướng dẫn của Illumina.
Số tài liệu 1000000030849 v03	Tháng 8 2021	Cập nhật địa chỉ của Đại diện được ủy quyền tại châu Âu. Bổ sung bảng Lịch sử sửa đổi.

Bảng sáng chế và nhãn hiệu

Tài liệu này và nội dung trong đó thuộc quyền sở hữu của Illumina, Inc. và các công ty liên kết của Illumina, Inc. ("Illumina") và chỉ dành cho việc sử dụng theo hợp đồng với khách hàng của Illumina liên quan đến việc sử dụng (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này và không dành cho mục đích nào khác. Tài liệu này và nội dung trong đó sẽ không được sử dụng hay phân phối vì bất kỳ mục đích nào khác và/hoặc không được truyền tải, tiết lộ hay sao chép dưới bất kỳ hình thức nào khác mà không có sự cho phép trước bằng văn bản của Illumina. Illumina không chuyển nhượng bất kỳ giấy phép nào theo các bằng sáng chế, nhãn hiệu, bản quyền hoặc các quyền theo thông luật cũng như các quyền tương tự của bất kỳ bên thứ ba nào thông qua tài liệu này.

Các hướng dẫn nêu trong tài liệu này phải được tuân thủ nghiêm ngặt và rõ ràng bởi cá nhân được đào tạo phù hợp và có đủ trình độ nhằm đảm bảo sử dụng an toàn và đúng cách (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này. Phải đọc và hiểu hoàn toàn tất cả nội dung của tài liệu này trước khi sử dụng (các) sản phẩm đó.

VIỆC KHÔNG ĐỌC TOÀN BỘ VÀ TUÂN THỦ RÕ RÀNG TẤT CẢ CÁC HƯỚNG DẪN NÊU TRONG TÀI LIỆU NÀY CÓ THỂ DẪN ĐẾN GÂY HƯ HỎNG (CÁC) SẢN PHẨM, GÂY TỐN THƯƠNG CHO CON NGƯỜI, BAO GỒM NGƯỜI DÙNG HOẶC NHỮNG NGƯỜI KHÁC VÀ GÂY THIỆT HẠI TÀI SẢN KHÁC, VÀ SẼ LÀM MẤT HIỆU LỰC BẢO HÀNH ÁP DỤNG CHO (CÁC) SẢN PHẨM ĐÓ.

ILLUMINA KHÔNG CHỊU BẤT KỲ TRÁCH NHIỆM NÀO PHÁT SINH TỪ VIỆC SỬ DỤNG KHÔNG ĐÚNG CÁCH (CÁC) SẢN PHẨM ĐƯỢC MÔ TẢ TRONG TÀI LIỆU NÀY (BAO GỒM CẢ CÁC BỘ PHẬN CỦA SẢN PHẨM HOẶC PHẦN MỀM).

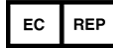
© 2021 Illumina, Inc. Bảo lưu mọi quyền.

Tất cả các nhãn hiệu đều là tài sản của Illumina, Inc. hoặc các chủ sở hữu tương ứng. Để biết thông tin cụ thể về nhãn hiệu, hãy xem trang web www.illumina.com/company/legal.html.

Thông tin liên hệ



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809,ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (ngoài khu vực Bắc Mỹ)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Hà Lan

Nhà bảo trợ tại Úc

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

Thông tin trên nhãn sản phẩm

Để có thông tin tham chiếu đầy đủ về các ký hiệu có thể xuất hiện trên bao bì và nhãn sản phẩm, hãy tham khảo bản chú giải ký hiệu cho bộ kit của bạn tại địa chỉ support.illumina.com.