

Прибор MiSeq[™] Dx Instrument

Первый прибор для секвенирования нового поколения (NGS), регламентированный FDA и имеющий маркировку CE-IVD, для диагностики *in vitro*

- Прибор прост в эксплуатации благодаря интуитивно понятному интерфейсу сенсорного экрана и автоматизированному процессу работы.
- В ходе комплексной проверки системы продемонстрировано высочайшее качество и надежность данных.
- Широкий спектр анализов молекулярной диагностики, разработанных для клинических лабораторий.
- Открытая платформа для разработки пользовательских анализов для диагностики *in vitro* (IVD, *In Vitro* Diagnostic) и возможность проведения других анализов в режиме исследования.

illumina®

Обзор

Прибор MiSeqDx Instrument — это первая платформа для секвенирования нового поколения (NGS, next-generation sequencing), регламентированная Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA, Food and Drug Administration) и отмеченная знаком соответствия стандартам ЕС в Европейском союзе (CE, Conformité Européenne) для диагностики *in vitro* (CE-IVD) (рис. 1). Прибор MiSeqDx Instrument, разработанный специально для использования в клинических лабораториях, занимает небольшую площадь (0,3 кв. м), отличается удобным рабочим процессом и способен предоставлять данные, отвечающие разнообразным потребностям клинических лабораторий. Кроме того, встроенное в прибор программное обеспечение позволяет выполнять настройку запуска, отслеживать образцы, управлять пользователями, вести журнал регистрации событий и интерпретировать результаты*. Пользуясь преимуществами проверенной химической реакции секвенирования путем синтеза (SBS, sequencing by synthesis), разработанной компанией Illumina, прибор MiSeqDx Instrument обеспечивает точное и надежное скрининговое и диагностическое тестирование.



Рис 1. Прибор MiSeqDx Instrument — регламентированный FDA и имеющий маркировку CE-IVD, обеспечивает простоту рабочего процесса, удобство интерфейса программного обеспечения и повышенную защиту пользователей.

* Подробные отчеты о результатах доступны для анализов, применяемых в рамках задач целевого секвенирования, таких как TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay и TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

Преимущества NGS

В сравнении с секвенированием методом капиллярного электрофореза по Сэнгеру, NGS позволяет выявлять более широкий спектр вариаций в структуре ДНК, включая редко встречающиеся варианты и соседние фазированные варианты, при этом сокращается время получения результата и уменьшается количество рабочих операций^{1,2}. В химической реакции Illumina SBS использована естественная конкуренция между всеми четырьмя мечеными нуклеотидами, что снижает вероятность ошибки встраивания и обеспечивает более надежное секвенирование повторяющихся областей в геноме и гомополимеров по сравнению с другими системами секвенирования³. Такой метод обеспечивает быстрое получение подробных результатов, избавляя от необходимости проводить длительные уточняющие анализы.

Простой трехэтапный рабочий процесс

Анализы на приборе MiSeqDx Instrument выполняются в соответствии с простым трехэтапным процессом (рис. 2), который начинается с извлечения геномной ДНК (гДНК) из образцов цельной периферической крови человека или тканей, зафиксированных формалином и залитых парафином (FFPE, formalin-fixed paraffin-embedded). Затем образцы ДНК готовят к секвенированию, добавляя праймеры и создавая индексированные библиотеки для одновременного захвата и амплификации сотен заданных областей в нескольких образцах.

Подготовленные библиотеки секвенируются с помощью готового к использованию, предварительно заполненного картриджа с реагентами MiSeqDx. Достаточно просто разморозить картридж, загрузить библиотеку, вставить в прибор MiSeqDx Instrument и запустить секвенирование с помощью одной кнопки.

Для выполнения NGS на приборе MiSeqDx Instrument используется химическая реакция Illumina SBS, при которой происходит массовое параллельное секвенирование миллионов фрагментов ДНК с помощью запатентованного метода, основанного на использовании обратимых терминаторов. Обнаружение однонуклеотидных оснований происходит по мере их встраивания в растущие нити ДНК. Распознавание оснований производится непосредственно на базе измерений интенсивности сигнала в ходе каждого цикла. Более подробно о химической реакции SBS можно узнать на сайте illumina.com.

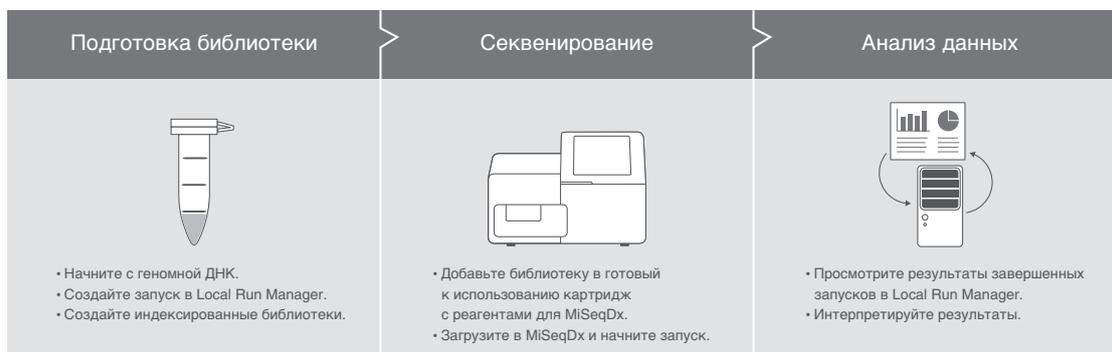


Рис 2. Трехэтапная процедура анализа на приборе MiSeqDx Instrument — прибор MiSeqDx Instrument используется в составе встроенной процедуры, включающей подготовку библиотеки и анализ данных для молекулярных диагностических исследований. Подробные отчеты о результатах доступны только для анализов, применяемых в рамках задач целевого секвенирования, таких как анализ TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay и анализ TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

Встроенное программное обеспечение системы

В приборе MiSeqDx Instrument имеется полностью встроенное программное обеспечение, доступ к которому осуществляется с помощью сенсорного экрана с удобным интерфейсом. Запуски секвенирования можно планировать и отслеживать с помощью журналов регистрации событий, используя программное обеспечение Local Run Manager, которое поддерживает отслеживание библиотек и задает параметры запуска секвенирования. Программное обеспечение Local Run Manager запускается на компьютере прибора, позволяя пользователям контролировать ход выполнения и просматривать результаты анализа с других компьютеров, подключенных к той же сети. По окончании секвенирования Local Run Manager автоматически запускает анализ данных с помощью одного из нескольких доступных аналитических модулей. Для выравнивания и определения конкретных вариаций или установленных пользователем целевых областей имеются аналитические модули, специфичные для конкретного анализа.

Программное обеспечение для управления пользователями

С целью обеспечения правильного использования системы прибор MiSeqDx Instrument оснащен встроенной системой управления пользователями. Она дает возможность лабораториям контролировать и отслеживать доступ к системе, гарантируя, что выполнять анализы будет только уполномоченный персонал.

Доступные анализы и реагенты

В настоящее время доступно множество анализов и реагентов для диагностики *in vitro*, предназначенных для использования с прибором MiSeqDx Instrument[†].

- Анализ **TruSight™ Cystic Fibrosis 139-Variant Assay** способен выявить 139 клинически значимых и функционально подтвержденных вариаций в гене регулятора трансмембранной проводимости при муковисцидозе (*CFTR*, cystic fibrosis transmembrane regulator), которые определены в базе данных CFTR2⁴.
- Анализ **TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay** выявляет мутации в областях кодирования белка и на границах интрон/экзон гена *CFTR*.
- Набор **TruSeq™ Custom Amplicon Kit Dx** — это решение на основе секвенирования ампликонов, которое позволяет пользователям разрабатывать анализы, предназначенные для определения наиболее важных для них генетических вариаций. Пользователи могут создавать собственные олигонуклеотидные зонды, специфичные для исследуемых областей, а для подготовки библиотек и секвенирования использовать реагенты, валидированные для работы с прибором MiSeqDx.

Анализы Illumina для подготовки библиотек, предназначенные для использования с системой MiSeq System на приборе MiSeqDx Instrument при его запуске в режиме Research Mode (Режим исследования), позволяют расширить функциональность системы.

[†] Подробные отчеты о результатах доступны для анализов, применяемых в рамках задач целевого секвенирования, таких как TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay и TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

Технические характеристики прибора MiSeqDx Instrument

Конфигурация прибора

Отслеживание расходных материалов с помощью радиочастотной идентификации (RFID)
Программное обеспечение прибора MiSeq
Программное обеспечение Local Run Manager

Управляющий компьютер прибора (внутренний)

Системный блок: Intel Core i7-7700, ЦП 2,9 ГГц
Память: 2 × 8 ГБ DDR3 SO-DIMM
Жесткий диск: нет
Твердотельные диски: 2 × 1 ТБ SATA
Операционная система: Windows 10

Светодиод (LED)

520 нм, 660 нм

Размеры

Ш × Г × В: 68,6 × 56,5 × 52,3 см (27,0 × 22,2 × 20,6 дюйма)
Масса 54,5 кг (120 фунтов)
Масса с тарой: 90,9 кг (200 фунтов)

Требования к электропитанию

90–264 В перем. тока при 50/60 Гц, 10 А, 400 Вт

Радиочастотный идентификатор (RFID)

Частота: 13,56 МГц
Мощность: 100 мВт

Производительность

Запуск на 1–96 образцов в зависимости от анализа

Параметры производительности

Максимальная длина прочтения: до 2 × 300 п. о. (специфические характеристики конкретного анализа указаны на листке-вкладыше)
Объем выходных данных (запуск на 2 × 150 п. о.): ≥ 5 ГБ
Количество прочтений, проходящих через фильтры: ≥ 15 миллионов
Показатель Q30 (при длине прочтения 2 × 150 п. о.): ≥ 80 %
Точность результатов для зародышевой линии^a:
ОРА: > 99,9 %^b относительно эталонных данных.
Точность результатов для соматических клеток^c:
ОРА: 100 % относительно эталонных данных
Воспроизводимость результатов для зародышевой линии^d:
ОРА: 99,88 % относительно эталонных данных
Воспроизводимость результатов для соматических клеток^d: 99,6 % от ожидаемого распознавания для образцов с мутациями

- Результаты получены с помощью репрезентативного анализа на основе TruSeq Amplicon, предназначенного для изучения различных генов, охватывающих 12 588 оснований в 23 разных хромосомах с использованием 150 ампликонов.
- ОРА: показатель общей согласованности (Overall Percent Agreement).
- Результаты основываются на анализе на муковисцидоз (CF-139).
- Результаты основываются на репрезентативном 2-геномном анализе на базе анализа TruSeq Amplicon.

Информация для заказа

| Изделие | Номер по каталогу |
|--|-------------------|
| Прибор MiSeqDx Instrument | DX-410-1001 |
| Набор реагентов MiSeqDx Reagent Kit v3 | 20037124 |
| Набор TruSeq Custom Amplicon Kit Dx | 20005718 |
| Набор для подготовки библиотек TruSight Cystic Fibrosis Library Prep (поддерживает анализы TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay и TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay, 96 тестов) | 20036925 |

Дополнительная информация

Прибор MiSeqDx Instrument: illumina.com/miseqdx

Молекулярная диагностика:
illumina.com/clinical/diagnostics

Литература

- Shokralla S, Porter TM, Gibson JF, et al. [Massively parallel multiplex DNA sequencing for specimen identification using an Illumina MiSeq platform.](#) *Sci Rep.* 2015;5:9687.
- Precone V, Monaco VD, Esposito MV, et al. [Cracking the Code of Human Diseases Using Next-Generation Sequencing: Applications, Challenges, and Perspectives.](#) *Biomed Res Int.* 2015;161648.
- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry.](#) *Nature.* 2008;456(7218):53–59.
- Clinical and Functional Translation of CFTR (CTFR2). cftr2.org. Дата обращения: 23 февраля 2021 г.

Заявление о предполагаемом использовании

Предполагаемое использование прибора MiSeqDx Instrument

Прибор MiSeqDx Instrument предназначен для целевого секвенирования библиотек ДНК из геномной ДНК человека, выделенной из цельной периферической крови или зафиксированной формалином и залитой парафином (FFPE, formalin-fixed, paraffin-embedded) ткани, которые используются для проводимых на приборе анализов для диагностики *in vitro* (IVD, *in vitro* diagnostic). Прибор MiSeqDx Instrument не предназначен для полногеномного секвенирования или секвенирования *de novo*. Прибор MiSeqDx Instrument надлежит использовать с зарегистрированными и каталогизированными, прошедшими проверку или утвержденными реагентами для диагностики *in vitro* и аналитическим программным обеспечением.

Предполагаемое использование набора реагентов MiSeqDx Reagent Kit v3

Набор реагентов MiSeqDx Reagent Kit v3 компании Illumina — это набор реагентов и расходных материалов, предназначенных для секвенирования библиотек образцов при использовании с валидированными для этой цели анализами. Набор реагентов MiSeqDx Reagent Kit v3 предназначен для использования с прибором MiSeqDx Instrument и соответствующим аналитическим программным обеспечением.

Предполагаемое использование анализа TruSight Cystic Fibrosis139-Variant Assay

Анализ Illumina TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay представляет собой систему проведения качественного анализа для диагностики *in vitro*, используемую для одновременного обнаружения 139 клинически значимых, являющихся причиной муковисцидоза, мутаций и вариаций гена регулятора трансмембранной проводимости при муковисцидозе (*CFTR*) в геномной ДНК, выделенной из образцов цельной периферической крови человека. К таким вариациям относятся рекомендованные Американской коллегией медицинской генетики (ACMG, American College of Medical Genetics) в 2004 г.¹ и рекомендованные Американской коллегией акушеров и гинекологов (ACOG, American College of Obstetricians and Gynecologists) в 2011 г.². Этот анализ предназначен для проведения скрининга на носительство генов среди взрослых лиц репродуктивного возраста, для подтверждающих диагностических анализов у новорожденных и детей, а также в качестве начального анализа в рамках вспомогательной диагностики у лиц с подозрением на муковисцидоз. Результаты этого анализа должен интерпретировать специалист, получивший профессиональную сертификацию по молекулярной генетике, или профессионал аналогичного уровня; кроме того, их следует оценивать в комплексе с другой доступной информацией, полученной в результате лабораторных анализов и клинических наблюдений. Данный анализ не рекомендован для применения при скрининге новорожденных, диагностических обследованиях плода, предимплантационном тестировании, а также в качестве самостоятельного метода диагностики. Анализ предназначен для использования на приборе MiSeqDx Instrument компании Illumina.

Литература по анализу на муковисцидоз TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant

1. Watson MS, Cutting GR, Desnick RJ, et al. [Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel](#). *Genet Med* 2004;6(5):387–391.
2. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. [ACOG Committee Opinion No. 486: Update on carrier screening for cystic fibrosis](#). *Obstet Gynecol.* 2011;117(4):1028–1031.

Предполагаемое использование анализа TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay

Анализ Illumina TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay представляет собой диагностическую систему для целевого секвенирования *in vitro*, позволяющую выполнять повторное секвенирование кодирующих белок областей и границ интрон/экзон гена регулятора трансмембранной проводимости при муковисцидозе (*CFTR*) в геномной ДНК, выделенной из образцов цельной периферической крови человека, отобранных в пробирки с K2EDTA. Этот анализ позволяет выявить однонуклеотидные вариации и малые инсерционно-делеционные мутации в пределах секвенируемой области, а также предоставляет информацию о двух глубоких интронных мутациях и двух крупных делециях. Анализ предназначен для использования на приборе MiSeqDx Instrument компании Illumina.

Предполагается, что данный анализ будет использоваться в качестве вспомогательного метода диагностики пациентов с подозрением на муковисцидоз (МВ). Наиболее целесообразно проводить этот анализ, когда у пациента наблюдаются нетипичные или неклассические проявления МВ или когда обе вызывающие заболевание мутации не удалось выявить с помощью других панелей для определения мутаций. Результаты данного анализа должен интерпретировать специалист, получивший профессиональную сертификацию по молекулярной генетике, или профессионал аналогичного уровня, кроме того, их следует оценивать в комплексе с другой доступной информацией, в том числе клиническими симптомами, результатами других диагностических тестов и семейным анамнезом. Данный анализ не рекомендован для использования в качестве самостоятельного метода диагностики, для диагностических обследований плода, предимплантационного тестирования, скрининга на носительство генов, скрининга новорожденных и популяционного скрининга.

Предполагаемое использование набора TruSeq Custom Amplicon Kit Dx

Набор TruSeq Custom Amplicon Kit Dx компании Illumina представляет собой комплект реагентов и расходных материалов, используемых для подготовки библиотек образцов из ДНК, извлеченной из цельной периферической крови человека и ткани, зафиксированной формалином и залитой парафином (FFPE, formalin-fixed paraffin-embedded). Для подготовки библиотек, нацеленных на конкретные исследуемые области генома, требуются реагенты, специфичные для анализа, которые пользователю следует приобрести отдельно. Созданные библиотеки образцов предназначены для использования на высокопроизводительных секвенаторах ДНК, выпускаемых компанией Illumina.

illumina®

Тел.: +1 800 809 45 66 (бесплатно для США) | +1 858 202 45 66
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© Illumina, Inc., 2023. Все права защищены. Все товарные знаки являются собственностью компании Illumina, Inc. или соответствующих владельцев. Информация о конкретных товарных знаках приведена по адресу www.illumina.com/company/legal.html.
M-NA-00005 RUS v3.0