

Прибор MiSeq™ Dx

Первый регулируемый FDA прибор для диагностики *in vitro* методом NGS, получивший маркировку CE - IVD

- Простота эксплуатации благодаря интуитивно понятному интерфейсу сенсорного экрана и автоматизированному рабочему процессу
- Исключительное качество и надежность данных, продемонстрированные в ходе всесторонней проверки системы
- Широкий выбор анализов для молекулярной диагностики, предназначенных для проведения в условиях клинических лабораторий
- Открытая платформа для создания пользовательских анализов для диагностики *in vitro* (In Vitro Diagnostic, IVD) с возможностью запуска других анализов в режиме для исследований Research Mode

illumina®

Обзор

Прибор MiSeqDx — первая платформа для секвенирования нового поколения (Next-Generation Sequencing, NGS), регулируемая Управлением США по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов (U. S. Food and Drug Administration, FDA) и отмеченная знаком соответствия стандартам ЕС в Европейском союзе (Conformité Européenne, CE) в отношении диагностики *in vitro* (CE-IVD) (рис. 1). Разработанный специально для использования в условиях клинических лабораторий, прибор MiSeqDx отличается компактностью (занимая площадь всего 0,3 кв. м), простотой рабочего процесса и форматом выходных данных, который может удовлетворить разнообразные потребности клинических лабораторий. Кроме того, встроенное программное обеспечение позволяет настраивать запуск, отслеживать образцы, управлять пользователями, вести журналы аудита и интерпретировать результаты*. Используя преимущества доказавшей свою эффективность химической реакции секвенирования путем синтеза (Sequencing by Synthesis, SBS) Illumina, прибор MiSeqDx обеспечивает точность и надежность результатов скрининга и диагностики.



Рис. 1. Прибор MiSeqDx: регулируемый FDA и маркированный CE-IVD прибор MiSeqDx отличается простотой рабочего процесса, удобством программного интерфейса и повышенным уровнем безопасности пользователей

* Подробные отчеты о результатах доступны для целевых специфических анализов, таких как анализ вариантов TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay и анализ клинически значимых вариантов TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

Преимущества NGS

В отличие от секвенирования по Сэнгеру на основе капиллярного электрофореза, метод NGS позволяет быстрее получать результат при меньшем числе стадий, требующих ручной работы, при этом определяется более широкий спектр вариантов ДНК, включая варианты с низкой частотой и соседние фазированные варианты^{1,2}. В химической реакции SBS Illumina используется естественная конкуренция между всеми четырьмя мечеными нуклеотидами, что снижает вероятность смещения встраивания и обеспечивает более стабильное секвенирование повторяющихся областей и гомополимеров в сравнении с другими системами секвенирования³. Эта технология обеспечивает быстрое получение максимально полных результатов без дополнительных, отнимающих время анализов.

Простой трехэтапный рабочий процесс

Анализы на приборе MiSeqDx выполняются по простой трехэтапной процедуре (рис. 2), которая начинается с извлечения геномной ДНК (гДНК) из образцов цельной периферической крови человека или зафиксированной формалином и залитой парафином (formalin-fixed, paraffin embedded, FFPE) ткани. После этого выполняется подготовка к секвенированию образцов ДНК посредством добавления праймеров и создания индексированных библиотек для одновременного захвата и амплификации сотен целевых областей в нескольких образцах.

Подготовленные библиотеки секвенируются с помощью готового к использованию и предварительно заполненного картриджа с реагентами для прибора MiSeqDx. Необходимо просто разморозить картридж, загрузить библиотеку, вставить в прибор MiSeqDx и запустить секвенирование нажатием кнопки.

В ходе NGS на приборе MiSeqDx используется химическая реакция SBS Illumina, во время которой выполняется массивное параллельное секвенирование миллионов фрагментов ДНК проприетарным методом, основанным на использовании обратимых терминаторов. Обнаружение одинарных оснований происходит по мере их встраивания в растущие нити ДНК. Распознавание оснований осуществляется при непосредственном измерении интенсивности сигнала во время каждого цикла. Подробнее о химической реакции SBS можно узнать на сайте illumina.com.



Рис. 2. Трехэтапная процедура анализа на приборе MiSeqDx: прибор MiSeqDx используется в составе комплексной процедуры, включающей подготовку библиотеки и анализ данных для молекулярных диагностических исследований. Подробные отчеты о результатах доступны только для таргет-специфичных анализов, таких как Extended RAS Panel, TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay и TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay

Встроенное программное обеспечение системы

В приборе MiSeqDx установлено полностью встроенное программное обеспечение, доступ к которому можно получить через удобный интерфейс сенсорного экрана. Планирование запусков секвенирования и их отслеживание с помощью журналов аудита можно выполнять в программном обеспечении Local Run Manager, которое поддерживает отслеживание библиотек и указание параметров запуска секвенирования. Программное обеспечение Local Run Manager работает на компьютере прибора, позволяя пользователям отслеживать ход выполнения запуска и просматривать результаты анализа с других компьютеров, подключенных к той же сети. После завершения секвенирования программное обеспечение Local Run Manager автоматически запускает анализ данных с помощью одного из нескольких доступных аналитических модулей. Среди доступных аналитических модулей есть модули для конкретных видов анализа, позволяющие выполнять выравнивание и определять конкретные варианты или варианты по нескольким таргетным областям, заданным пользователем.

Программное обеспечение для управления пользователями

Для обеспечения надлежащего использования системы прибор MiSeqDx оснащен интегрированной системой управления пользователями. Она позволяет лабораториям контролировать и отслеживать доступ к системе, допуская к запуску анализов только уполномоченный персонал.

Доступные анализы и реагенты

В настоящее время доступно несколько анализов и реагентов для диагностики *in vitro* (IVD), предназначенных для использования на приборе MiSeqDx[†].

- Анализ **TruSight™ Cystic Fibrosis 139-Variant Assay** предназначен для выявления 139 клинически значимых вариантов и вариантов с подтвержденной функциональностью в гене регулятора трансмембранной проводимости при муковисцидозе (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, *CFTR*), определенных в базе данных CFTR2⁴.
- Анализ **TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay** предназначен для выявления мутаций в кодирующих белок областях и на границах интрон/экзон гена *CFTR*.
- Набор **TruSeq™ Custom Amplicon Kit Dx** — решение для секвенирования на основе ампликонов, позволяющее пользователям создавать анализы, предназначенные для выявления наиболее важных с их точки зрения генетических вариантов; пользователи могут создавать свои собственные олигонуклеотидные зонды, специфичные для исследуемых областей, а для подготовки библиотек и секвенирования использовать валидированные для прибора MiSeqDx реагенты.
- Панель **Extended RAS Panel** — первая одобренная FDA панель для IVD на основе NGS, используемая в качестве вспомогательного метода выявления пациентов с колоректальным раком, соответствующих критериям лечения препаратом Вектибикс, посредством одновременной оценки 56 мутаций в генах *RAS*, наличие которых является противопоказанием к терапии препаратом Вектибикс; встроенное программное обеспечение позволяет получить легко читаемый отчет[‡].

[†] Подробные отчеты о результатах доступны для таргет-специфичных анализов, таких как анализ вариантов TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay и анализ клинически значимых вариантов TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

[‡] На данный момент доступно только в США.

Для расширения функциональности при подготовке библиотек можно использовать анализы компании Illumina, предназначенные для использования с системой MiSeq System на приборе MiSeqDx при запуске в режиме Research Mode.

Технические характеристики прибора MiSeqDx

Конфигурация прибора

Отслеживание расходных материалов с помощью технологии радиочастотной идентификации (Radio Frequency Identification, RFID)
Программное обеспечение прибора MiSeq
Программное обеспечение Local Run Manager

Управляющий компьютер прибора (внутренний)

Системный блок: Intel Core i7-2710QE 2,10 ГГц
Память: SO-DIMM DDR3, 2 × 8 ГБ
Жесткий диск: нет
Твердотельные накопители: SATA, 2 × 1 ТБ
Операционная система: Windows 7 Embedded Standard

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 обрешеткой: 90,9 кг (200 фунтов)

Требования к электропитанию

100–240 В пер. тока при 50/60 Гц, 10 А, 400 Вт

Радиочастотный идентификатор (RFID)

Частота: 13,56 МГц
Мощность: 100 мВт

Производительность

1–96 образцов/запуск в зависимости от анализа

Эксплуатационные параметры

Максимальная длина прочтения: до 2 × 300 п. о.
(технические характеристики конкретного анализа указаны на листке-вкладыше)
Объем выходных данных (запуск на 2 × 150 п. о.): > 5 ГБ
Количество прочтений, проходящих через фильтр: > 15 млн
Показатель Q30 (при длине прочтения 2 × 150 п. о.): ≥ 80 %
Общая точность: ≥ 99,66 %
Общая воспроизводимость: ≥ 99,70 %

Информация для заказа

| Изделие | Номер в каталоге |
|---|------------------|
| Прибор MiSeqDx | DX-410-1001 |
| Набор MiSeqDx Reagent Kit v3 | 20037124 |
| Набор TruSeq Custom Amplicon Kit Dx | 20005718 |
| Набор TruSight Cystic Fibrosis Library Prep (поддерживает анализы TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay и TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay, 96 анализов) | 20036925 |
| Панель Extended RAS Panel (рассчитана на 2 запуска, включающих до 10 образцов плюс 2 контрольных образца на запуск или 20 образцов на набор) | 20012431 |

Подробнее

О приборе MiSeqDx: illumina.com/miseqdx.

О молекулярной диагностике: illumina.com/clinical/diagnostics.

Список литературы

- 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 (CFTR2). cftr2.org.
Дата обращения: 23 февраля 2021 г.

Заявления о целевом назначении

Целевое назначение прибора MiSeqDx

Прибор MiSeqDx предназначен для таргетного секвенирования библиотек ДНК из геномной ДНК человека, извлеченной из цельной периферической крови или зафиксированной формалином и залитой парафином (FFPE) ткани, используемых для проводимых на приборе анализов для диагностики *in vitro* (IVD). Прибор MiSeqDx не предназначен для полногеномного секвенирования или секвенирования *de novo*. Прибор MiSeqDx надлежит использовать с зарегистрированными и каталогизированными, прошедшими проверку или утвержденными реагентами и аналитическим программным обеспечением для IVD.

Целевое назначение набора MiSeqDx Reagent Kit v3

Набор Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 представляет собой комплект реагентов и расходных материалов, предназначенных для секвенирования библиотек образцов при использовании с валидированными анализами. Набор MiSeqDx Reagent Kit v3 предназначен для использования с прибором MiSeqDx и аналитическим программным обеспечением.

Целевое назначение анализа TruSight Cystic Fibrosis 139-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 мутаций и вариантов, вызывающих муковисцидоз, в гене регулятора трансмембранной проводимости при муковисцидозе (*CFTR*) геномной ДНК, выделенной из образцов цельной периферической крови человека. Сюда относятся варианты, рекомендованные в 2004 году Американской коллегией медицинских генетиков (American College of Medical Genetics, ACMG)¹, а в 2011 году — Американской коллегией акушеров и гинекологов (American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG)². Этот анализ предназначен для проведения исследований на носительство генов среди взрослых репродуктивного возраста, для подтверждающих диагностических анализов у новорожденных и детей, а также в качестве начального анализа в рамках вспомогательных методов диагностики у лиц с подозрением на муковисцидоз. Результаты этого анализа должен интерпретировать сертифицированный клинический молекулярный генетик или специалист аналогичного уровня, и их следует использовать

совместно с другой имеющейся лабораторной и клинической информацией. Этот анализ не предназначен для использования при скрининге новорожденных, диагностических исследованиях плода, предимплантационных анализах, а также как отдельный метод диагностики. Анализ предназначен для использования на приборе MiSeqDx компании Illumina.

Список литературы для анализа TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay

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.

Целевое назначение анализа TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay

Анализ Illumina TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay представляет собой анализ таргетного секвенирования из системы диагностики *in vitro*, позволяющий выполнять ресеквенирование кодирующих белок областей и границ интрон/экзон гена регулятора трансмембранной проводимости при муковисцидозе (*CFTR*) геномной ДНК, выделенной из образцов цельной периферической крови человека, отобранных в пробырки с K2EDTA. Этот анализ выявляет однонуклеотидные варианты и небольшие вставки-делеции в секвенируемой области, а также предоставляет информацию о двух глубоких интронных мутациях и двух крупных делециях. Анализ предназначен для использования на приборе MiSeqDx компании Illumina.

Анализ предназначен для использования в качестве вспомогательного метода диагностики пациентов с подозрением на муковисцидоз (МВ). Этот анализ целесообразнее всего проводить, 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 этого анализа должен интерпретировать сертифицированный клинический молекулярный генетик или специалист аналогичного уровня, и их следует использовать совместно с другой имеющейся информацией, включая информацию о клинических симптомах, результатах других диагностических тестов, а также семейный анамнез. Этот анализ не предназначен для использования как отдельный метод диагностики, при диагностических исследованиях плода, предимплантационных анализах, скрининге носительства генов, скрининге новорожденных и популяционном скрининге.

Целевое назначение набора TruSeq Custom Amplicon Kit Dx

Набор Illumina TruSeq Custom Amplicon Kit Dx представляет собой комплект реагентов и расходных материалов, используемых для подготовки библиотек образцов из ДНК, извлеченной из цельной периферической крови человека и зафиксированной формалином и залитой парафином (FFPE) ткани. При подготовке целевых библиотек для конкретных исследуемых областей генома требуются аналит-специфичные реагенты, которые предоставляются пользователем. Созданные библиотeki образцов предназначены для использования на высокопроизводительных анализаторах последовательностей ДНК, выпускаемых компанией Illumina.

Целевое назначение панели Extended RAS Panel

Панель Praxis™ Extended RAS Panel представляет собой качественный анализ для диагностики *in vitro*, в котором используется целевое высокопроизводительное параллельное секвенирование для выявления 56 специфических мутаций в генах RAS [KRAS (экзоны 2, 3 и 4) и NRAS (экзоны 2, 3 и 4)] в ДНК, извлеченной из образцов зафиксированной формалином и залитой парафином (FFPE) ткани пациентов с колоректальным раком. Панель Praxis Extended RAS Panel предназначена для использования в качестве вспомогательного метода выявления пациентов с колоректальным раком, соответствующих критериям лечения препаратом Вектибрикс (панитумумабом)¹, на основании отсутствия обнаруженных мутаций в результатах анализа. Анализ предназначен для использования на приборе MiSeqDx компании Illumina.

Предупреждения и ограничения, касающиеся панели Extended RAS Panel

- Для использования только по назначению врача.
- Для оптимальной эффективности анализа следует надлежащим образом обращаться с образцами и соблюдать инструкции по эксплуатации.

- В отчете Extended RAS Panel Report определяется только присутствие или отсутствие мутаций в генах KRAS и NRAS, указанных на листке-вкладыше^{2, 3}.
- Для образцов, соответствующим критериям проведения анализа ДНК согласно требованиям, описанным в инструкциях по применению, частота недействительных результатов для анализа составляет 6,9–14,5 % согласно оценкам, выполненным соответственно в ходе ретроспективных клинических исследований и исследований точности метода.
- Риски, обусловленные использованием панели Extended RAS Panel, связаны с потенциальным неправильным лечением пациентов на основании ложных результатов анализа. Ложноположительный результат анализа может привести к отмене лечения препаратом Вектибрикс пациента, который мог бы получить от него пользу. Ложноотрицательный результат анализа может привести к назначению препарата Вектибрикс пациенту, который вряд ли получит от него пользу, но при этом скорее всего будет испытывать нежелательные побочные эффекты, связанные с терапией, а также ему могут не назначить другой препарат, более подходящий, чем Вектибрикс.
- Лаборатории должны соблюдать правила техники безопасности, поскольку некоторые компоненты могут содержать потенциально опасные химические вещества, способные вызывать поражения тканей в случае вдыхания, проглатывания, контакта с кожей и попадания в глаза.

Список литературы для панели Extended RAS Panel

1. Vectibix. [Prescribing information](#). Amgen; 2017. Дата обращения: 2 марта 2021 г.
2. Extended RAS Panel. [Package insert](#). Illumina; 2017. Дата обращения: 2 марта 2021 г.
3. Extended RAS Panel. [FDA Summary of Safety and Effectiveness Data](#). Illumina; 2017. Дата обращения: 2 марта 2021 г.

illumina®

Тел. 1-800-809-4566 (бесплатно для США) | Тел. +1-858-202-4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© Illumina, Inc., 2021. Все права защищены. Все товарные знаки являются собственностью компании Illumina, Inc. или их соответствующих владельцев. Информация о конкретных товарных знаках приведена на странице www.illumina.com/company/legal.html. M-NA-00005 RUS, версия 1.0