



The State of Maryland

Office of the Secretary of State

This Apostille is not valid for use anywhere within the United States of America, its territories or possessions.

This Apostille does not certify the content of the document for which it is issued.

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America
This public document
2. has been signed by **Scott A. Poyer**
3. acting in the capacity of **Clerk of the Circuit Court**
4. bears the seal/stamp of the **Clerk of Circuit Court of Anne Arundel County**

Certified

5. at Annapolis, Maryland
6. the **11th day of July, 2022**
7. by The Secretary of State of Maryland

8. No. 604687

9. Seal



10. Signature

Secretary of State

State of Maryland, Anne Arundel County, Sct.

I, **SCOTT A. POYER**, Clerk of the Circuit Court for Anne Arundel County, Maryland, a court of record, do hereby certify that **Ahmad Miski** was a commissioned/appointed and qualified Notary Public commencing on the 10th day of May, 2021.

In Testimony Whereof, I have hereunto set my hand and affixed the seal of the court July 11, 2022



Scott A. Poyer

Scott A. Poyer, Clerk
Circuit Court for Anne Arundel County, Maryland

Safety instruction

Manufacturer:

Illumina, Inc

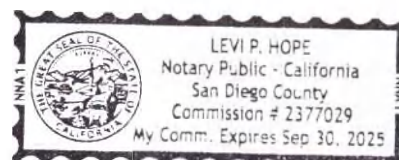
Address:

5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA

On behalf of Illumina, Inc.

Aurelia Brownridge

Aurelia Brownridge
Sr. Regulatory Affairs Specialist
Illumina, Inc.



Date: July 11, 2022

Genetic sequencer MiSeq variant: MiSeqDx

Safety instruction

I, Hanadi Ajami, hereby certify
that this document is
a true copy of the original

State of Maryland, Anne Arundel County
Subscribed and Sworn to before me by
Hanadi Ajami.

Ahmad Miski
Notary Public

JUL 11 2022

My Commission expires on May 28, 2025



Manufacturer:

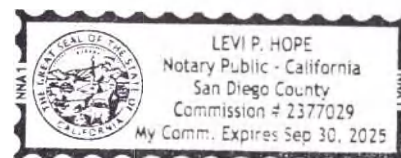
Illumina, Inc

Address:

5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA

On behalf of Illumina, Inc.

Aurelia Brownridge
Sr. Regulatory Affairs Specialist
Illumina, Inc.



Date: July 11, 2022

CALIFORNIA ACKNOWLEDGMENT

CIVIL CODE § 1189

A notary public or other officer completing this certificate verifies only the identity of the individual who signed the document to which this certificate is attached, and not the truthfulness, accuracy, or validity of that document.

State of California

County of SAN DIEGO

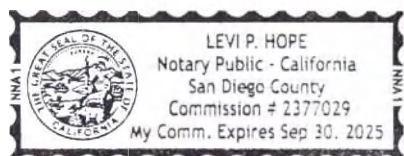
On 07/12/2022 before me, LEVI P HOPE, NOTARY PUBLIC
Date Here Insert Name and Title of the Officer

personally appeared AURELIA BROWURIDGE
Name(s) of Signer(s)

who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person~~s~~ whose name~~s~~ is/are subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he~~/she/they~~ executed the same in his~~/her/their~~ authorized capacity~~(ies)~~, and that by his~~/her/their~~ signature~~s~~ on the instrument the person~~s~~, or the entity upon behalf of which the person~~s~~ acted, executed the instrument.

I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.



Place Notary Seal and/or Stamp Above

Signature Levi Hope
Signature of Notary Public

OPTIONAL

Completing this information can deter alteration of the document or fraudulent reattachment of this form to an unintended document.

Description of Attached Document COVER PAGE FOR MISEQDX INSTRUMENT

Title or Type of Document: 1 FU SAFETY

Document Date: 07/11/2022 Number of Pages: 1

Signer(s) Other Than Named Above: _____

Capacity(ies) Claimed by Signer(s)

Signer's Name: _____
☐ Corporate Officer – Title(s): _____
☐ Partner – ☐ Limited ☐ General
☐ Individual ☐ Attorney in Fact
☐ Trustee ☐ Guardian or Conservator
☐ Other: _____
Signer is Representing: _____

Signer's Name: _____
☐ Corporate Officer – Title(s): _____
☐ Partner – ☐ Limited ☐ General
☐ Individual ☐ Attorney in Fact
☐ Trustee ☐ Guardian or Conservator
☐ Other: _____
Signer is Representing: _____

Генетический секвенатор MiSeqDx

Инструкция по безопасности и соответствия требованиям

ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*

Введение.....	4
Техника безопасности и маркировка.....	5
Символы	8
Соответствие требованиям и нормативным документам	9
Техническая помощь.....	12

СОБСТВЕННОСТЬ КОМПАНИИ ILLUMINA
Документ № 15034477 вер. 04
Август 2021 г.

illumina®

Данный документ и его содержимое являются собственностью компании Illumina, Inc. и ее аффилированных лиц (Illumina), и предназначены исключительно для использования описанного здесь изделия (изделий) клиентами компании согласно договору. Данный документ и его содержимое не подлежат использованию или распространению для иных целей и/или передаче, раскрытию и воспроизведению каким-либо способом без предварительного письменного разрешения компании Illumina. Данным документом компания Illumina не предоставляет никаких разрешений по своему патенту, товарному знаку, правам в рамках общего права или аналогичным правам третьих лиц.

Для обеспечения правильного и безопасного использования продукта(ов), инструкции, изложенные в данном документе, должны строго и четко соблюдаться квалифицированным и должным образом обученным персоналом. Перед использованием таких изделий обязательно следует ознакомиться со всей информацией, представленной в настоящем документе.

НЕСОБЛЮЖДЕНИЕ ВСЕХ ИНСТРУКЦИЙ, СОДЕРЖАЩИХСЯ В НАСТОЯЩЕМ ДОКУМЕНТЕ, МОЖЕТ ПРИВЕСТИ К ПОВРЕЖДЕНИЮ ПРОДУКТА(ОВ), ТРАВМАМ ЛЮДЕЙ, В ТОМ ЧИСЛЕ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ ИЛИ ДРУГИХ ЛИЦ, А ТАКЖЕ К ПОВРЕЖДЕНИЮ ДРУГОГО ИМУЩЕСТВА.

КОМПАНИЯ ILLUMINA НЕ БЕРЕТ НА СЕБЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА ПОСЛЕДСТВИЯ НЕНАДЛЕЖАЩЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОДУКТА (ПРОДУКТОВ), ОПИСАННОГО В ДАННОМ ДОКУМЕНТЕ (ВКЛЮЧАЯ ОТДЕЛЬНЫЕ ЧАСТИ, А ТАКЖЕ ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ).

© 2021 г. Illumina, Inc. Все права защищены.

Illumina, MiSeqDx, тыквенно-оранжевый цвет, и дизайн перетекающих последовательностей нуклеотидов являются товарными знаками компании Illumina, Inc. и/или ее аффилированных компаний в США и/или других странах. Все остальные названия, логотипы и другие товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

История изменений

Документ №	Дата	Описание изменений
15034477 v04	Август 2021 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя ЕС.
15034477 v03	Декабрь 2019 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя ЕС. Обновлен адрес австралийского спонсора.
15034477 v02	Август 2017 г.	Обновлен список справочных руководств по приборам в разделе «Техника безопасности и маркировка». Обновлены рекомендации FCC по EMC относительно радиопомех в бытовых условиях. Добавлены следующие нормативно-правовые документы: • RoHS 2011/65/EU; • Директива по радиооборудованию 2014/53/EU Обновлены следующие нормативно-правовые документы: • EMC; • директива по низковольтному оборудованию; Обновлено заявление о соответствии нормам радиочастотного воздействия на человека. Добавлено заявление о соответствии требованиям к излучению и помехоустойчивости в разделе «Требования по ЭМС». Удалены некоторые нормативно-правовые документы, так как они теперь доступны по адресу support.illumina.com/certificates.html . Удален раздел «Нормативно-правовое соответствие и маркировка». Добавлено заявление о радиочастотных помехах в раздел «Нормативно-правовые требования Кореи». Обновлена обязательная маркировка на задней крышке.
15034477 v01	Октябрь 2015 г.	Обновлена обязательная маркировка на задней крышке. Добавлена история изменений. Изменен порядок следования разделов руководства в главе «Соответствие изделия и нормативно-правовые требования». Указано примечание, что дата изготовления и страна происхождения указаны на этикетке прибора. Добавлены заявления о соответствии для Бразилии, Кореи и Мексики. Внесены следующие изменения в раздел «Нормативно-правовое соответствие и маркировка»: • добавлен знак для Кореи; • удален знак FCC. Добавлена Директива R&TTE 1999/5/EC в раздел «Сертификация изделия и нормативно-правовые требования». Удалена информация по экранированным кабелям. Добавлен раздел, посвященный кабелям Ethernet и вопросам ЭМС. в предупреждении по электробезопасности обозначение источника опасного напряжения перенесено с левой боковой панели на правую боковую панель.
Часть № 15034477 ред. А.	Февраль 2014 г.	Первый выпуск

Введение

В данном руководстве описана важная информация по мерам безопасности при установке, сервисном обслуживании и эксплуатации генетического секвенатора MiSeqDx, а также информация о соответствии продукции и нормативно-правовая информация. Прочитайте этот документ перед выполнением любых работ на генетическом секвенаторе MiSeqDx.

Страна происхождения генетического секвенатора MiSeqDx и дата изготовления напечатаны на этикетке прибора.

Техника безопасности и маркировка

Цель данного раздела — выявить потенциальные опасности, связанные с установкой, обслуживанием и эксплуатацией генетического секвенатора MiSeqDx. Не выполняйте с прибором такие работы, которые подвергают пользователя риску воздействия данных опасных факторов.

Опасности, обозначенные маркировкой на приборе, описаны в этом разделе.

Все описанные опасные факторы можно исключить, следуя указаниям стандартных операционных процедур, включенных в справочное руководство по генетическому секвенатору MiSeqDx.

Тип генетического секвенатора MiSeqDx	Справочное руководство по прибору
MOS v2	Справочное руководство по генетическим секвенаторам MiSeqDx с MOS v.2 (документ № 1000000021961) — для генетических секвенаторов MiSeqDx с MOS вер. 2. (Все приборы с MOS v2 поставляются в конфигурации с двойной загрузкой.)

Общие предупреждения об опасности

Перед эксплуатацией генетического секвенатора MiSeqDx весь персонал должен быть обучен компанией Illumina правильной работе с прибором и правилам техники безопасности.



ВНИМАНИЕ!

Для минимизации рисков травм или повреждения оборудования при работе в зонах, отмеченных данным знаком, выполняйте все указания рабочих инструкций.

Предупреждение об опасности электрического напряжения

Не снимайте крышки корпуса прибора. Внутри прибора отсутствуют компоненты, обслуживаемые пользователем. Использование прибора со снятыми крышками создает риск поражения электрическим током с напряжением сети, а также с постоянными напряжениями.



Напряжение питания прибора составляет 100–240 В переменного тока частотой 50–60 Гц. Большинство источников напряжения расположены за правой боковой панелью, но они также могут быть доступны, если сняты другие панели. Некоторые внутренние части прибора могут оставаться под напряжением даже после отключения электропитания. Во избежание поражения электрическим током используйте прибор, только если все крышки корпуса закрыты.

Требования к электропитанию

	Норма
Напряжение сети	100–240 В перем. тока 50/60 Гц
Потребляемая мощность	400 Вт

Электрические соединения

Подключите прибор к заземленной сети, которая рассчитана на следующую минимальную нагрузку:

- ▶ 10 ампер для источника питания 100–110 В;
- ▶ 6 ампер для источника питания 220–240 В.

Для получения дополнительной информации см. «Руководство по подготовке места для установки генетического секвенатора MiSeqDx с конфигурацией двойной загрузки» (документ № 15070066).

Защитное заземление



На приборе предусмотрено подключение к защитному заземлению через корпус. Провод предохранительного заземления в кабеле питания соединяется с точкой защитного заземления на корпусе прибора. Во время эксплуатации устройства соединение защитного заземления через кабель питания должно быть в нормальном рабочем состоянии.

Предохранители

Генетический секвенатор MiSeqDx не содержит заменяемых пользователем предохранителей.

Предупреждение об опасности горячих поверхностей



Не используйте генетический секвенатор MiSeqDx со снятыми крышками корпуса.

Не прикасайтесь к держателю, расположенному внутри отсека проточной ячейки. Термоэлектрический нагреватель с эффектом Пельтье, используемый в области держателя, обычно при работе имеет температуру в диапазоне от комнатной (22 °C) до 95 °C. Воздействие температур в верхней части этого диапазона может привести к ожогам.

Предупреждение об опасности тяжелых предметов



Масса прибора составляет приблизительно 126 фунтов (57 кг) и может привести к серьезным травмам, если его уронить или неправильно использовать.

Распаковка, установка и перемещение прибора

Распаковку, установку и перемещение генетического секвенатора MiSeqDx должен проводить только уполномоченный компанией Illumina персонал. Если прибор необходимо переместить, обратитесь в Службу поддержки компании Illumina, чтобы организовать выезд сервисного инженера.

Контактная информация приведена на внутренней стороне задней обложки данного документа.

Ограничения по окружающим условиям

Параметр	Норма
Температура	Транспортировка и хранение: от -10 до 40 °C (от 14 до 104 °F); условия эксплуатации: от 19 до 25 °C (от 66 до 77 °F)
Влажность	Транспортировка и хранение: влажность без конденсации в условиях эксплуатации: 30–75 % относительная влажность (без конденсации)
Высота над уровнем моря	Устанавливайте прибор на высоте ниже 2000 метров (6500 футов) над уровнем моря.
Качество воздуха	Используйте прибор в условиях с воздухом степени загрязнения II или чище. Воздух степени загрязнения II обычно содержит только непроводящие загрязняющие вещества.
Вентиляция	Проконсультируйтесь с соответствующим отделом вашей компании, чтобы выработать требования к вентиляции на основании характеристик тепловыделения прибора.

Символы

	Для диагностики <i>in vitro</i>
EC REP	Уполномоченный представитель в Европейском сообществе
	Производитель
	Дата изготовления
	Номер по каталогу
	Серийный номер
	Выключить
	Включить
	Диапазон влажности (на упаковке: указывает допустимые пределы для транспортировки и хранения)
	Температурный диапазон (на упаковке: указывает допустимые пределы для транспортировки и хранения)

Заявления о соответствии требованиям и нормативным документам

Сертификация продукции и соответствие требованиям

Настоящим компания Illumina заявляет, что генетический секвенатор MiSeqDx соответствует требованиям следующих Директив:

- ▶ EMC 2014/30/EU;
- ▶ IVD 98/79/EC;
- ▶ низковольтное оборудование 2014/35/EU;
- ▶ радиооборудование 2014/53/EU;
- ▶ RoHS 2011/65/EU;
- ▶ R&TTE 1999/5/EC.

С полным текстом деклараций о соответствии и сертификатов соответствия требованиям ЕС можно ознакомиться по адресу: support.illumina.com/certificates.html.

Окружающая среда



Эта этикетка указывает на то, что прибор не следует утилизировать вместе с обычными бытовыми отходами.

Верните инструмент в компанию Illumina для утилизации.

Радиочастотное воздействие на человека

Данное оборудование соответствует требованиям по максимально допустимому радиочастотному воздействию (MPE) на население в целом в соответствии со Сводом федеральных законов (CFR), раздел 47, § 1.1310, таблица 1.

Данное оборудование соответствует приведенным в разделах EN 50364:2010 4.0 требованиям по ограничению воздействия электромагнитных полей от устройств, работающих на частоте от 0 до 10 ГГц, используемых для радиочастотной идентификации (RFID) в бытовых и профессиональных условиях.

Соответствие требованиям FCC

Данное устройство соответствует требованиям части 15 правил FCC. Эксплуатация допускается при выполнении следующих двух условий:

1. Данное устройство не должно создавать вредных помех.
2. Данное устройство устойчиво ко всем принимаемым помехам, в том числе тем, которые могут вызывать сбои в работе

Руководство по обеспечению безопасности и соответствия требованиям для генетического секвенатора MiSeqDx

Документ № 15034477 вер. 04

устройства.



ВНИМАНИЕ!

Изменения или доработки данного изделия, выполненные без явного подтверждения стороны, отвечающей за соответствие требованиям, могут лишить пользователя права на использование оборудования.



ПРИМЕЧАНИЕ

Данное оборудование прошло проверку на соответствие требованиям к цифровым устройствам класса А согласно правилам FCC, часть 15. Эти требования предназначены для обеспечения достаточной защиты от вредного воздействия помех при эксплуатации оборудования в коммерческих условиях.



Данное оборудование генерирует, использует и может излучать радиочастотную энергию и, если оно установлено и используется без соблюдения указаний руководства по эксплуатации, может являться источником вредных помех для средств радиосвязи. Эксплуатация данного оборудования в жилых районах может вызывать радиочастотные помехи, при этом пользователь будет обязан устранить эти помехи за свой счет.

Кабели Ethernet

Используйте неэкранированный кабель Ethernet CAT-5e, чтобы обеспечить соответствие требованиям норм излучения CISPR 11, класс А.

Сведения по электромагнитной совместимости

- ▶ Данное оборудование IVD удовлетворяет требованиям по излучению помех и помехоустойчивости согласно IEC 61326-2-6.
- ▶ Это оборудование было разработано и испытано в соответствии с требованиями стандарта CISPR 11, класса А. Оно может вызывать радиопомехи в бытовых устройствах. В этом случае следует принять меры для снижения уровня помех.
- ▶ Не используйте данное устройство вблизи мощных источников электромагнитных излучений, т. к. они могут влиять на его нормальную работу.
- ▶ Перед использованием устройства проведите оценку условий с точки зрения электромагнитного излучения.

Соответствие требованиям IC для Канады

Данное цифровое устройство класса А удовлетворяет требования канадского стандарта по оборудованию, излучающему радиопомехи (ICES).

Устройство соответствует требованиям канадской промышленной лицензии, кроме стандартов RSS. Эксплуатация допускается при выполнении

следующих двух условий:

1. Данное устройство не может создавать помехи.
2. Данное устройство должно учитывать наличие помех, в том числе тех, которые могут вызывать сбои в работе устройства.

В соответствии с нормативными требованиями министерства промышленности Канады, данный радиопередатчик можно эксплуатировать только с использованием такой антенны, тип и максимальный (или меньший) коэффициент усиления которой утверждены этим министерством.

Для уменьшения возможных радиопомех для других пользователей тип и коэффициент усиления антенны должны быть подобраны таким образом, чтобы эквивалентная изотропно-излучаемая мощность (ЭИИМ) не превышала необходимую для успешного осуществления связи.

Этот радиопередатчик (Ид. № IC: 9859A-MISEQ) был одобрен министерством промышленности Канады только для работы с подключенной встроенной петлевой антенной. Использование данного устройства с любым другим типом антенн строго запрещено.

Техническая помощь

Для получения технической помощи обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.

Таблица 1 Общая контактная информация компании Illumina

Веб-сайт:	www.illumina.com
Эл. почта	techsupport@illumina.com

Таблица 2 Телефоны службы клиентской поддержки компании Illumina

Регион	Контактный телефон	Регион	Контактный телефон
Северная Америка	1.800.809.4566	Италия	800.874909
Australia (Австралия)	1.800.775.688	Нидерланды	0800.0223859
Австрия	0800.296575	Новая Зеландия	0800.451.650
Бельгия	0800.81102	Норвегия	800.16836
Дания	80882346	Испания	900.812168
Финляндия	0800.918363	Швеция	020790181
Франция	0800.911850	Швейцария	0800.563118
Германия	0800.180.8994	Великобритания	0800.917.0041
Ирландия	1.800.812949	Другие страны	+44.1799.534000

Паспорта безопасности

Паспорта безопасности на материалы (SDS) доступны на веб-сайте компании Illumina по адресу support.illumina.com/sds.html.

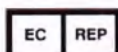
Документация по продукту

Документация по продукту в формате PDF доступна для загрузки с веб-сайта компании Illumina. Перейдите на веб-сайт support.illumina.com, выберите продукт, затем «Документация и литература» (Documentation & Literature).



Illumina
5200 IlluminaWay
San Diego, California 92122
U.S.A. (США)
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (за пределами
Северной Америки)
techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands
(Нидерланды)



Спонсор в Австралии
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Australia (Австралия)



Штат Мэриленд

Администрация секретаря штата

Настоящий апостиль не действителен для использования в Соединенных Штатах Америки, на территориях и во владениях, принадлежащих данному государству.

Апостиль не удостоверяет содержание документа, для которого он был выдан.

Apostille (апостиль)

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961 (Гаагская конвенция от 5 октября 1961 г.))

1. Страна: Соединенные Штаты Америки

Настоящий официальный документ

2. Подписан **Скоттом А. Пойером (Scott A. Poyer)**

3. Выступающим в качестве **секретаря окружного суда**

4. Скреплен печатью/штампом **секретаря Окружного суда округа Анн-Арандел**

Удостоверено

5. В г. Аннаполисе, штат Мэриленд

6. **11 июля 2022 г.**

7. Секретарем штата Мэриленд

8. За № 604687

9. Печать:

/Печать/: ПЕЧАТЬ АДМИНИСТРАЦИИ
СЕКРЕТАРЯ ШТАТА ШТАТ МЭРИЛЕНД

10. Подпись:

/Подпись/
Секретарь штата

Штат Мэриленд, округ Анн-Арандел

Настоящим я, **СКОТТ А. ПОЙЕР**, секретарь Окружного суда округа Анн-Арандел, штат Мэриленд, который является судом письменного производства, удостоверяю, что **Ахмад Миски (Ahmad Miski)** является должным образом назначенным на должность, уполномоченным и квалифицированным нотариусом, действующим с 10 мая 2021 года.

В удостоверение чего я скрепляю настоящий документ
собственноручной подписью и печатью суда сегодня,
11 июля 2022 г.

/Печать/: ОКРУЖНОЙ
СУД ОКРУГА
АНН-АРАНДЕЛ, ШТАТ
МЭРИЛЕНД

/Подпись/

Скотт А. Пойер, секретарь
Окружной суд округа Анн-Арандел, штат Мэриленд

**«Генетический секвенатор Miseq
: MiseqDx»**

**Инструкция по
безопасности**

*/Штамп/: Настоящим я, Ханади
Аджамы (Hanadi Ajami), удостоверяю,
что данный документ является
подлинной копией оригинала.*

/Подпись/

*Штат Мэриленд, округ Анн-Арандел **
Подписано Ханади Аджамы под
*присягой в моем присутствии. **

Ахмад Миски
Нотариус

/Подпись/

11 июля 2022 г.

Срок действия полномочий истекает
28 мая 2025 г.

*/Печать/: ШТАТ МЭРИЛЕНД **
*ОКРУГ АНН-АРАНДЕЛ **
*НОТАРИУС * АХМАД МИСКИ*

Производитель:

«Иллюмина, Инк.» (Illumina, Inc.)

Адрес:

5200 Иллюмина Уэй, Сан-Диего, Калифорния 92122, США (5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA)

*/Штамп/: ЛИВАЙ П. ХОУП (LEVI P. HOPE) * Нотариус,*
*штат Калифорния * Округ Сан-Диего * Лицензия №*
*2377029 * Срок действия полномочий истекает*
30 сентября 2025 г. /БОЛЬШАЯ ПЕЧАТЬ ШТАТА
КАЛИФОРНИЯ/

Со стороны «Иллюмина, Инк.»

/Подпись/

Аурелия Браунридж (Aurelia Brownridge)

Главный специалист нормативно-правового отдела
«Иллюмина, Инк.»

Дата: 11 июля 2022 г.

**НОТАРИАЛЬНОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
ШТАТА КАЛИФОРНИЯ**

§ 1189 ГРАЖДАНСКОГО КОДЕКСА

Нотариус или иное должностное лицо, заполнившее настоящее свидетельство, удостоверяет только личность лица, подписавшего документ, к которому приложено настоящее свидетельство, а не достоверность, правильность или действительность указанного документа.

Штат Калифорния
Округ САН-ДИЕГО

}

Сегодня, 12.07.2022
Дата

ко мне, нотариусу ЛИВАЮ П. ХОУПУ,

Указать имя, фамилию и должность
официального лица

лично обратилась

АУРЕЛИЯ БРАУНРИДЖ.

Имена, фамилии лиц, подписавших документ

предоставившая достаточные доказательства, что является лицом, чьим именем подписан прилагаемый документ, и подтвердила, что уполномочена на его подписание и что посредством подписания ею настоящего документа физическое или юридическое лицо, от имени которого она действовала, надлежащим образом оформило настоящий документ.

/Штамп/: ЛИВАЙ П. ХОУП * Нотариус,
штат Калифорния * Округ Сан-Диего *
Лицензия № 2377029 * Срок действия
полномочий истекает 30 сентября
2025 г. * /БОЛЬШАЯ ПЕЧАТЬ ШТАТА
КАЛИФОРНИЯ/

В соответствии с законодательством штата
Калифорния ПОД УГРОЗОЙ НАКАЗАНИЯ
ЗА ПРЕДОСТАВЛЕНИЕ ЗАВЕДОМО
ЛОЖНЫХ СВЕДЕНИЙ подтверждаю, что
приведенный выше абзац является верным и
точным.

ЗАСВИДЕТЕЛЬСТВОВАНО моей подписью
и официальной печатью.

Подпись: /Подпись/

Место печати и (или) штампа нотариуса

Подпись нотариуса

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

Заполнение информации в данном разделе может предотвратить внесение изменений в документ или неправомерное присоединение данной формы к другому документу.

Описание приложенного документа

Название или тип документа: ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ
ДЛЯ ИЗДЕЛИЯ MISEODX

Дата документа: 11.07.2022 Количество страниц: 1

Подписавшие документ лица, не указанные выше:

Полномочия, заявленные лицами, подписавшими документ

Имя, фамилия лица, подписавшего документ:

- ☐ Должностное лицо компании, должности:
☐ Партнер: ☐ с ограниченной ответственностью ☐ полный
☐ Физическое лицо ☐ Лицо, действующее по доверенности
☐ Доверительный управляющий ☐ Опекун или попечитель
☐ Другое:

Лицо, подписавшее документ, представляет:

Имя, фамилия лица, подписавшего документ:

- ☐ Должностное лицо компании, должности:
☐ Партнер: ☐ с ограниченной ответственностью ☐ полный
☐ Физическое лицо ☐ Лицо, действующее по доверенности
☐ Доверительный управляющий ☐ Опекун или попечитель
☐ Другое:

Лицо, подписавшее документ, представляет:

Россия

Россия

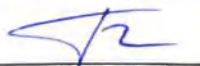
525771

С

1616



Перевод данного текста выполнен мной, переводчиком Тумановым Владимиром Олеговичем.



Российская Федерация

Город Москва

Третьего августа две тысячи двадцать второго года.

Я, Литвинова Татьяна Николаевна, временно исполняющая обязанности нотариуса города Москвы Якубовой Татьяны Олеговны, свидетельствую подлинность подписи переводчика Туманова Владимира Олеговича.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 77/2171-н/77-2022- *86-698*

Уплачено за совершение нотариального действия: 400 руб. 00 коп.

Всего прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью *22* *лист(а)(ов)*

ВРИО нотариуса



Т.Н.Литвинова





This Apostille is not valid for use anywhere within the United States of America, its territories or possessions.

This Apostille does not certify the content of the document for which it is issued.

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America
This public document
2. has been signed by **Scott A. Poyer**
3. acting in the capacity of **Clerk of the Circuit Court**
4. bears the seal/stamp of the **Clerk of Circuit Court of Anne Arundel County**

Certified

5. at Annapolis, Maryland
6. the **11th day of July, 2022**
7. by The Secretary of State of Maryland

8. No. 604683

- ## 9. Seal



John C. Wichman

Secretary of State

State of Maryland, Anne Arundel County, Sect.

I, SCOTT A. POYER, Clerk of the Circuit Court for Anne Arundel County, Maryland, a court of record, do hereby certify that **Ahmad Miski** was a commissioned/appointed and qualified Notary Public commencing on the 10th day of May, 2021.

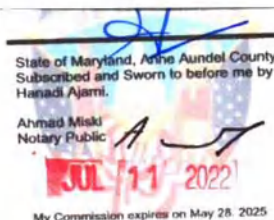
In Testimony Whereof, I have hereunto set my hand and affixed the seal of the court July 11, 2022

Scott A. Poyer

Scott A. Poyer, Clerk
Circuit Court for Anne Arundel County, Maryland



Operational instruction



Manufacturer:

Illumina, Inc

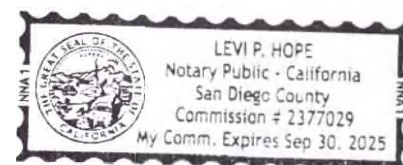
Address:

5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA

On behalf of Illumina, Inc.

Aurelia Brownridge

Aurelia Brownridge
Sr. Regulatory Affairs Specialist



Date: July 11, 2022

Genetic sequencer MiSeq variant: MiSeqDx

Operational instruction

I, Hanadi Ajami, hereby certify
that this document is
a true copy of the original

State of Maryland, Anne Arundel County
Subscribed and Sworn to before me by
Hanadi Ajami.

Ahmad Miski
Notary Public

JUL 11 2022

My Commission expires on May 28, 2025



Manufacturer:

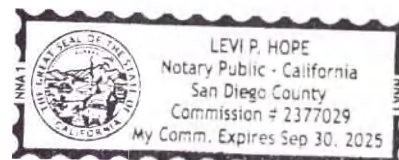
Illumina, Inc

Address:

5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA

On behalf of Illumina, Inc.

Aurelia Brownridge
Sr. Regulatory Affairs Specialist
INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU
illumina, inc.



Date: July 11, 2022

CALIFORNIA ACKNOWLEDGMENT

CIVIL CODE § 1189

A notary public or other officer completing this certificate verifies only the identity of the individual who signed the document to which this certificate is attached, and not the truthfulness, accuracy, or validity of that document.

State of California

County of SAN DIEGOOn 07/12/2022 before me, LEVI P HOPE, NOTARY PUBLIC
Date Here Insert Name and Title of the Officerpersonally appeared AURELIA BROWNRIDGE
Name(s) of Signer(s)

who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person(s) whose name(s) is/are subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he/she/they executed the same in his/her/their authorized capacity(ies), and that by his/her/their signature(s) on the instrument the person(s), or the entity upon behalf of which the person(s) acted, executed the instrument.



I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.

Signature

Signature of Notary Public

Place Notary Seal and/or Stamp Above

OPTIONAL

Completing this information can deter alteration of the document or fraudulent reattachment of this form to an unintended document.

Description of Attached Document COVER PAGE FOR MISEQDX INSTRUMENTTitle or Type of Document: IFU VER 2Document Date: 07/11/2022 Number of Pages: 1

Signer(s) Other Than Named Above: _____

Capacity(ies) Claimed by Signer(s)

Signer's Name: _____

☐ Corporate Officer – Title(s): _____☐ Partner – ☐ Limited ☐ General☐ Individual ☐ Attorney in Fact☐ Trustee ☐ Guardian or Conservator☐ Other: _____

Signer is Representing: _____

Signer's Name: _____

☐ Corporate Officer – Title(s): _____☐ Partner – ☐ Limited ☐ General☐ Individual ☐ Attorney in Fact☐ Trustee ☐ Guardian or Conservator☐ Other: _____

Signer is Representing: _____

Russia

2/6jo

000 ЦРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

625771

C

Генетический секвенатор MiSeqDx

ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ IN VITRO

№ по каталогу DX-410-1001

Назначение

Генетический секвенатор MiSeqDx предназначен для целевого секвенирования библиотек ДНК из геномной ДНК человека, выделенной из цельной периферической крови или из фиксированной в формалине и залитой в парафин (далее FFPE от formaldehyde fixed-paraffin embedded) ткани, при использовании в диагностике *in vitro* (IVD, от *in vitro* diagnostic), выполняемой на этом приборе. Генетический секвенатор MiSeqDx не предназначен для секвенирования всего генома или секвенирования *de novo*. Генетический секвенатор MiSeqDx предназначен для использования с зарегистрированными и внесенными в перечень или утвержденными реагентами для IVD и аналитическим программным обеспечением.

Принципы методики

Генетический секвенатор MiSeqDx производства компании «Иллюмина» (Illumina) предусмотрен для целевого повторного секвенирования ДНК человека с использованием расходных материалов для секвенирования производства компании «Иллюмина» (Illumina) и библиотек, полученных с геномной ДНК человека, выделенной из периферической цельной крови или FFPE ткани, с использованием зарегистрированных и включенных в перечень, допускаемых реагентов или реагентов, утвержденных для IVD. Библиотеки получают путем амплификации мишеней и присоединения индексов к образцам и последовательностям захвата. Библиотеки испытуемых образцов иммобилизуют на проточной ячейке и секвенируют на приборе с использованием химического метода секвенирования путем синтеза (далее SBS от sequencing by synthesis). В химической технологии SBS для обнаружения отдельных азотистых оснований нуклеотидов по мере их включения в растущие цепи ДНК используют метод обратимых терминаторов. Программное обеспечение анализа в режиме реального времени (RTA от RealTime Analysis) выполняет анализ изображений и распознавание азотистых оснований и присваивает каждому азотистому основанию баллы качества для каждого цикла секвенирования. По завершении основного анализа обработка результатов распознавания азотистых оснований осуществляется в процессе дополнительного анализа на приборе MiSeqDx. Обработка включает демультимплексирование, генерирование файла FASTQ, выравнивание, определение вариантов и генерирование файлов в формате определенных вариантов (далее VCF от variant call format), содержащих информацию о вариантах, обнаруженных в конкретных положениях по отношению к стандартному образцу референсной сборки генома. В зависимости от рабочего процесса в генетическом секвенаторе MiSeqDx для дополнительного анализа используются различные модули. Доступны как модули определения для герминальных вариантов или для соматических вариантов, так и модули определения для специального применения.

Конфигурация двухвариантной загрузки

Конфигурация двухвариантной загрузки включает аппаратные средства, программное обеспечение и процедуры установки, позволяющие генетическому секвенатору MiSeqDx выполнять исследования последовательности как для применения в диагностике *in vitro* (IVD), так и исключительно в исследовательских целях (RUO от research use only). Конфигурация двухвариантной загрузки позволяет пользователю переключать режим прибора с диагностического на исследовательский. Радиочастотные идентификаторы (РЧИД) Август 2021 г.

(RFID) на расходных материалах секвенирования предотвращают использование реагентов RUO для IVD секвенирования.

Ограничения методики

1. Для применения в диагностике *in vitro*.
2. Результаты, представленные в информации о продукте, были получены при постановке репрезентативных панелей анализов с использованием клеток периферической цельной крови или линий клеток для определения герминальных мутаций или линий клеток FFPE для определения соматических мутаций с помощью описываемых реагентов и модулей программного обеспечения. Рабочие характеристики представлены исключительно в информационных целях. Представленное валидационное испытание в соответствии с требованиями специального контроля высокопроизводительных анализаторов последовательности ДНК предназначено исключительно в целях иллюстрации общих возможностей прибора и не позволяет установить возможности или пригодность прибора применительно к каким-либо определенным требованиям. Для всех диагностических тестов, разработанных для использования на данном приборе, необходимо проведение валидации в полном объеме для всех аспектов рабочих характеристик.
3. Ограничения данного устройства включают обеспечение:
 - Выхода секвенирования ≥ 5 Гб
 - Риды (прочтения) проходящие фильтры ≥ 15 млн
 - Длины прочтения (при прогоне секвенирования по типу парного прочтения) 2 x 150 п. о.
 - Оснований с качеством выше $Q30 \geq 80\%$ при длине прочтения 2 x 150 п. о.

Больше или равное 80% оснований имеют качество по шкале Phred выше 30, что указывает на точность распознавания оснований более 99,9%.
4. Генетический секвенатор MiSeqDx был валидирован только для последовательностей библиотек человеческой ДНК, выделенной из периферической цельной крови и ткани FFPE. Библиотеки, полученные из других типов образцов, не подлежат использованию на данном приборе для диагностики *in vitro*. Характеристики данного прибора для секвенирования нуклеиновых кислот микроорганизмов из клинических образцов не установлены.
5. Генетический секвенатор MiSeqDx предназначен для применения в диагностике *in vitro* с зарегистрированными и внесенными в перечень, допустимыми реагентами или утвержденными реагентами или тест-системами для IVD. Генетический секвенатор MiSeqDx может быть задействован в применении для диагностики *in vitro* с перечисленными ниже тест-системами/наборами реагентов для анализа или зарегистрированными для IVD реагентами.

Название	№ по каталогу	№ документа инструкции по применению
Набор реагентов Praxis® Extended RAS Panel для качественного определения статуса специфических мутаций генов RAS (KRAS (экзоны 2, 3 и 4) и NRAS (экзоны 2, 3 и 4)) методом секвенирования нового поколения в пробе геномной ДНК человека, выделенной из образцов тканей колоректального рака, фиксированных в формалине, и заключенных в парафиновые блоки	20012431	1000000037190
MiSeqDx Cystic Fibrosis 139-Variant Assay* (MiSeqDx Муковисцидоз вариант анализа -139-)	DX-102-1004 DX-102-1003	15038347
MiSeqDx Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay* (MiSeqDx Клинический секвеновый анализ муковисцидоза)	DX-102-1001	15038344
Набор реагентов TruSeq Custom Amplicon Kit Dx*	20005718	1000000029772
Набор реагентов ИВД MiSeqDx v3 (MiSeqDx Reagent Kit v3) для секвенирования нуклеиновых кислот	2001252/20037124	1000000030849

*Не применимо для Российской Федерации

Описанные в данной инструкции ограничения для универсальных реагентов и рабочие характеристики основаны на репрезентативных исследованиях. По тест-системам IVD необходимо смотреть инструкцию по применению, определяемые варианты и типы испытуемых образцов для конкретной тест-системы.

6. Программное обеспечение не способно выравнивать прочтения, содержащие инсерции или делеции (инсерции, делеции и их комбинации) длиной более 25 п. о. Следовательно, программное обеспечение тест-системы не может определить инделы длиной более 25 п. о.
7. Система валидирована для определения однонуклеотидных вариантов (ОНВ) и делеций вплоть до 25 п. о. и инсерций 24 п. о. при использовании модуля программного обеспечения для герминальных вариантов (Germline) и для соматических (Somatic Variant). Для определения соматических вариантов с частотой вариантов 0,05 были обнаружены делеции 25 п. о. и инсерции 18 п. о.
8. Программное обеспечение может невыравнивать прочтения ампликонов с большим количеством вариантов, и в результате определяемая область будет указана в отчете как дикий тип. К прочтениям с большим количеством вариантов относятся:
 - Прочтения, содержащие более трех инсерций или делеций,
 - Прочтения длиной как минимум 30 п. о. с содержанием ОНВ более 4% от общей длины ампликона-мишени (за исключением участков зонда) и
 - Прочтения длиной менее 30 п. о. с содержанием ОНВ более 10% от общей длины ампликона-мишени (включая участки зонда).
9. Варианты большей длины, включающие в себя многонуклеотидные варианты (МНВ) и большие инделы, могут быть указаны в файле результатов VCF в виде отдельных вариантов меньшей длины.
10. Делеционные варианты, охватывающие два размещенных рядом ампликона, могут быть отфильтрованы или пропущены, если длина делеции больше или равна региону перекрытия между размещенными рядом ампликонами.
11. Система не может обнаружить инделы, если они непосредственно примыкают к праймеру и не перекрываются ни одним ампликом. Для участков с перекрывающимися ампликонами программное обеспечение не может обнаружить делеции, если область перекрытия меньше, чем размер определяемой делеции. Например, если область перекрытия между двумя примыкающими друг к другу ампликонами состоит из двух (2) оснований, тест-система не может обнаружить какие-либо делеции, включающие оба эти основания. Делецию одного из этих оснований можно обнаружить.
12. При любом варианте приготовления библиотек на основе гибридизации, на гибридизуемые аллели и, следовательно, на определение в процессе секвенирования могут влиять исходные полиморфизмы, мутации, инсерции или делеции в участках, связывающих олигонуклеотиды. Например:
 - Вариант в одной фазе с вариантом, находящимся в области праймера, может не амплифицироваться, что приводит к ложно отрицательному результату,
 - Варианты, находящиеся в области праймера, могут препятствовать амплификации референсного аллеля, что приводит к неверному определению варианта как гомозиготный,
 - Варианты с инсерциями или делециями в области праймера могут приводить к ложно положительному определению в конце прочтения, которое примыкает к праймеру.
13. Варианты с инсерциями или делециями могут быть отфильтрованы за счет смещения нити ДНК, если они встречаются вблизи конца одного прочтения и удаляются в процессе выравнивания.
14. МНВ небольшого размера не были валидированы.
15. Варианты изменения количества копий гена или структурные варианты, такие как

слияния или транслокации, не были валидированы.

16. Ограничения по протоколу для герминальных вариантов:

- Система генетического секвенатора MiSeqDx, использующая модуль для герминальных вариантов предназначена для выдачи результатов определения герминальных вариантов мутаций (т. е. гомозигот, гетерозигот, дикого типа).
- При использовании модуля для герминальных вариантов минимальное покрытие на ампликон, необходимое для точного определения варианта, составляет 150х. На покрытие влияет количество испытуемых образцов и общее количество целевых оснований. На покрытие может влиять GC-состав и другое состояние генома.
- Изменение числа копий гена может влиять на определение варианта как гомозиготный или как гетерозиготный.
- В файлах VCF варианты в определенном контексте повторов отфильтровываются. Фильтр повторов RMxN используется, чтобы отфильтровывать варианты, если вся последовательность варианта или ее участок повторяется в примыкающем к варианту положении в референсном геноме. При определении герминального варианта для того, чтобы вариант был отфильтрован, необходимо по меньшей мере 9 повторов в референсном геноме, и учитываются только повторы длиной менее 5 п. о. (R5x9).

17. Ограничения протокола для соматических вариантов:

- Система генетического секвенатора MiSeqDx, использующая модуль для соматических вариантов, предназначена для выдачи качественных результатов определения соматических вариантов мутаций (т. е. присутствие соматического варианта с частотой варианта, большей или равной 0,026 при пределе обнаружения 0,05).
- При использовании модуля для соматических вариантов минимальное покрытие на ампликон, необходимое для точного определения варианта, составляет 450х на пул олигонуклеотидов. На покрытие влияет количество испытуемых образцов и общее количество целевых оснований. На покрытие может влиять GC-состав и другое состояние генома.
- В файлах VCF варианты в определенном контексте повторов отфильтровываются. Фильтр повторов RMxN используется, чтобы отфильтровывать варианты во всей последовательности варианта или ее участке, если она повторяется в примыкающем к варианту положении в референсном геноме. При определении соматического варианта для того, чтобы вариант был отфильтрован, необходимо по меньшей мере 6 повторов в референсном геноме, и учитываются только повторы длиной вплоть до 3 п. о. (R3x6).
- Модуль для соматических вариантов не может отличить герминальные варианты от соматических. Этот модуль предназначен для обнаружения вариантов во всем диапазоне частот вариантов, но частоту вариантов нельзя использовать для дифференциации соматических вариантов от герминальных. Нормальная ткань в образце влияет на обнаружение вариантов. Регистрируемый предел обнаружения основан на частоте варианта относительно суммарной ДНК, выделенной как из опухолевой, так и из нормальной ткани.

Компоненты изделия

Генетический секвенатор MiSeqDx состоит из следующих компонентов:

Генетический секвенатор MiSeqDx (№ по каталогу DX-410-1001)

Для работы генетического секвенатора MiSeqDx и анализа данных требуются следующие компоненты программного обеспечения:

Программное приложение	Назначение	Описание
Операционное программное обеспечение MiSeq (MiSeq Operating Software, MOS)	Контролирует работу прибора	Программное приложение MOS управляет работой прибора в процессе секвенирования и генерирует изображения, используемые программным обеспечением анализа в режиме реального времени (Real-Time Analysis, RTA). Дополнительную информацию см. в документе <i>Справочное руководство к MOS версия 2 генетического секвенатора MiSeqDx (документ № 1000000021961)</i> .
Программное обеспечение анализа в режиме реального времени (RTA)	Выполняет первичный анализ	Программное приложение RTA преобразует изображения, генерируемые MOS для каждой ячейки на прогон цикла секвенирования, в файлы распознавания азотистых оснований, которые являются файлами ввода для модулей анализа локального менеджера прогона (Local Run Manager). Программное приложение RTA не включает в себя пользовательский интерфейс.
Локальный менеджер прогона (Local Run Manager)	Интерфейс для выбора модуля	Программное обеспечение «Локальный менеджер прогона» (Local Run Manager) представляет собой систему, встроенную в процесс работы прибора, для управления пользователем, выполнения дополнительного анализа и мониторинга состояния. Дополнительную информацию см. в документе <i>Справочное руководство к программному обеспечению Local Run Manager генетического секвенатора MiSeqDx (документ № 1000000011880)</i> .
Модуль для соматических вариантов (Somatic Variant Module)	Выполняет вторичный анализ	Этот модуль анализа программного обеспечения «Локальный менеджер прогона» (Local Run Manager) выполняет обработку распознавания азотистых оснований посредством дополнительного анализа. Обработка включает демультиплексирование, генерирование файла FASTQ, выравнивание, определение вариантов и создание отчета. Программа определения вариантов (Pisces) генерирует файлы VCF, содержащие информацию о вариантах, обнаруженных в конкретных положениях референсного генома, и включает в себя определение частоты вариантов.
Модуль для герминальных вариантов (Germline Variant Module)	Выполняет дополнительный анализ	Этот модуль анализа программного обеспечения «Локальный менеджер прогона» (Local Run Manager) выполняет обработку распознавания азотистых оснований посредством дополнительного анализа. Обработка включает демультиплексирование, генерирование файла FASTQ, выравнивание, определение вариантов и создание отчета. Программа определения вариантов (Pisces) генерирует файлы VCF, содержащие информацию о вариантах, обнаруженных в конкретных положениях референсного генома, и определяет каждый вариант как гетерозиготу или гомозиготу.

Хранение и обращение

Элемент	Спецификации
Температура	Транспортировка и хранение: от -10 °C до 40 °C (14 °F – 104 °F) Условия работы: от 19 °C до 25 °C (66 °F – 77 °F)
Влажность	Транспортировка и хранение: влажность, не вызывающая образование конденсата Условия работы: относительная влажность 30–75% (не вызывающая образование конденсата)

Необходимое оборудование и материалы, не поставляемые в комплекте

Расходные материалы для секвенирования

Набор реагентов ИВД MiSeqDx v3 (MiSeqDx Reagent Kit v3) для секвенирования нуклеиновых кислот (№ по каталогу 20012552/20037124)

Расходные материалы, обеспечиваемые пользователем

Перед началом прогона убедитесь, что следующие обеспечиваемые пользователем расходные материалы имеются в наличии.

Расходный материал	Назначение
Спиртовые салфетки, 70% изопропиловый спирт или этанол, 70%	Очистка проточной ячейки и подставки
Лабораторные салфетки из безворсовой ткани	Очистка подставки проточной ячейки
Бумага для оптических стекол, 4 × 6 дюймов	Очистка проточной ячейки
Твин-20	Промывание прибора
Пинцеты пластмассовые с прямоугольными концами (необязательно)	Извлечение проточной ячейки из транспортного контейнера
Вода лабораторного класса чистоты	Промывание прибора

Рекомендации для воды лабораторного класса чистоты

Для проведения процедур по уходу за прибором всегда используйте воду лабораторного класса чистоты. Ни в коем случае не используйте водопроводную воду.

Может быть использовано любое из перечисленного ниже:

- Illumina PW1
- Вода 18 Мегаом (MΩ)
- Вода Milli-Q
- Вода Super-Q
- Вода молекулярно-биологического класса

Особые указания и меры предосторожности

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Федеральный закон разрешает продажу данного устройства только врачам или по заказу врачей или других практикующих специалистов, имеющих лицензию в соответствии с законодательством штата, в котором они работают, на использование или заказ использования данного устройства.

1. Некоторые компоненты реагентов, поставляемых компанией «Иллюмина» (Illumina) для использования с генетическим секвенатором MiSeqDx, содержат потенциально вредные химические вещества. Вред может быть причинен сотрудникам при вдыхании, проглатывании, попадании на кожу и попадании в глаза. Пользуйтесь защитным оборудованием, включая средства защиты глаз, перчатки и лабораторный халат, соответствующие уровню риска воздействия. Использованные реактивы подлежат обращению как с химическими отходами и утилизации в соответствии с применимыми региональными, государственными и местными законами и правилами. Информацию о гигиене окружающей среды и безопасности см. в паспортах безопасности (SDS) на сайте

support.illumina.com/sds.html.

2. Со всеми образцами крови следует обращаться так, как если бы было известно, что они инфицированы вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусом гепатита В (HBV) и другими передающимися через кровь возбудителями заболеваний (универсальные меры предосторожности).
3. Несоблюдение описанных выше процедур может привести к ошибочным результатам или значительному снижению качества испытуемых образцов.
4. Соблюдайте стандартные меры предосторожности при работе в лаборатории. Не набирайте жидкость в пипетку ртом. Не принимайте пищу, напитки и не курите в зонах, предусмотренных для работы. При обращении с образцами и реагентами из набора пользуйтесь одноразовыми перчатками и носите лабораторные халаты. После работы с образцами и реагентами из набора тщательно вымойте руки.
5. Для предотвращения загрязнения реагентов, инструментальных средств и образцов геномной ДНК продуктами ПЦР необходимо соблюдать правила надлежащей лабораторной практики и тщательной гигиены при работе в лаборатории. Загрязнение продуктами ПЦР может привести к получению неточных и недостоверных результатов.
6. Для предотвращения загрязнения убедитесь, что в зонах обработки до амплификации и после амплификации находится необходимое оборудование и расходные материалы (например, пипетки, наконечники для пипеток, термоблоки, вихревые и центрифуги).
7. Расположение пар индекс-образец должно точно соответствовать печатной схеме размещения на планшете. При вводе данных в модуль локального менеджера прогона (Local Run Manager) программа автоматически вводит индексные праймеры, связанные с названиями образцов. Пользователю рекомендуется проверять связь индексных праймеров с образцами перед началом прогона секвенирования. Несовпадение с индексной схемой размещения образцов на планшете приводит к утрате идентификации образцов положительного контроля и некорректной отчетности о результатах.
8. Для защиты компьютера от вирусов настоятельно рекомендуется установить обеспечиваемое пользователем антивирусное программное обеспечение. Для получения инструкции по установке обратитесь к руководству пользователя.
9. Не работайте с генетическим секвенатором MiSeqDx при снятой какой-либо из панелей. Работа с прибором, в котором снята любая из панелей, оказывает потенциальное воздействие на напряжение в сети и напряжение постоянного тока.
10. Не касайтесь установки проточной ячейки в отсеке проточной ячейки. Нагревательный элемент в этом отсеке работает при температуре от 22 °C до 95 °C, и контакт с ним может привести к ожогам.
11. Прибор весит приблизительно 126 фунтов, и его падение или неправильное обращение с ним может привести к серьезным травмам.

Инструкции по применению

Для соблюдения приведенных ниже инструкций по применению генетического секвенатора MiSeqDx требуются реагенты, поставляемые с Набором реагентов ИВД MiSeqDx v3 (MiSeqDx Reagent Kit v3) для секвенирования нуклеиновых кислот.

Создание прогона с помощью локального менеджера прогона (Local Run Manager)

Подробные инструкции см. в документе *Справочное руководство к программному обеспечению Local Run Manager генетического секвенатора MiSeqDx (документ № 1000000011880)* и руководство к модулю локального менеджера прогона по используемому модулю анализа.

1. Выберите «Создать прогон» (Create Run) и выберите модуль локального

менеджера прогонов для соматических вариантов или для герминальных вариантов.

2. Введите название прогона, позволяющее идентифицировать этот прогон во всех текущих анализах секвенирования.
3. Используйте буквенно-цифровые символы, пробелы, подчеркнутые пробелы или дефисы.
4. [Необязательно] Введите описание прогона, помогающее идентифицировать прогон.
Используйте буквенно-цифровые символы, пробелы, подчеркнутые пробелы или дефисы.

Импорт файлов манифеста для прогона

1. Убедитесь, что в доступном расположении сети, подсоединенной к прибору, или на USB-носителе имеются необходимые Вам файлы манифеста для импорта.
2. Выберите «Импорт файлов манифеста» (Import Manifests).
3. Перейдите к файлу манифеста и выберите файлы манифеста, которые хотите добавить.

Указание испытываемых образцов для прогона

Укажите испытываемые образцы для прогона, используя следующие опции:

Ввод испытываемых образцов вручную — используйте пустую таблицу на экране создания прогона (Create Run).

Импорт испытываемых образцов — перейдите во внешний файл в формате значений с разделителями-запятыми (comma-separated values; *.csv). Шаблон доступен для загрузки на экран создания прогона (Create Run).

После вставки таблицы испытываемых образцов Вы можете экспортировать информацию об образцах во внешний файл и использовать этот файл в качестве справочного при приготовлении библиотек или импортировать этот файл для другого прогона.

Ввод испытываемых образцов вручную

1. Выберите количество образцов и набор индексов из выпадающего списка.
2. Введите уникальное название (*модуль анализа для соматических вариантов «Соматические варианты»*) или идентификационный номер (ID) (*модуль анализа для герминальных вариантов «Герминальные варианты»*) испытываемого образца.
Используйте буквенно-цифровые символы, дефисы или подчеркивание.
Для модуля «Соматические варианты» название испытываемого образца, введенное в одну лунку для образцов, автоматически вставляется в соответствующую лунку в другом пуле.
3. [Необязательно] Для образцов положительного или отрицательного контроля нажмите правую кнопку мыши и выберите тип контроля.
Для модуля «Соматические варианты» группа контрольных образцов в одной лунке для образцов автоматически вставляется в соответствующую лунку в другом пуле с аналогичным контролем.
4. [Необязательно] Выберите вкладку «Описание» и введите описание испытываемого образца. Используйте буквенно-цифровые символы, дефисы или подчеркивание.
Для модуля «Соматические варианты» описание, введенное в одну лунку для образцов, автоматически вставляется в соответствующую лунку в другом пуле.
5. Выберите вкладку Индекс 1 (i7) и выберите адаптер Индекса 1 из выпадающего списка.
6. Выберите вкладку Индекс 2 (i5) и выберите адаптер Индекса 2 из выпадающего списка.
7. Выберите файл манифеста из выпадающего списка файлов манифеста (Manifest).
Для модуля «Соматические варианты» (Somatic Variant) для испытываемых образцов в пуле A требуется другой файл манифеста, чем для испытываемых образцов в пуле B.

8. Выберите опцию просмотра, печати или сохранения схемы расположения на планшете в качестве справки для приготовления библиотек:
 - Для отображения схемы расположения образцов на планшете выберите пиктограмму «Печать» (Print). Выберите «Печать» (Print) для печати схемы расположения образцов на планшете.
 - Для экспорта информации об испытуемых образцах во внешний файл выберите «Экспорт» (Export).
9. Выберите «Сохранить прогон» (Save Run).

Импорт образцов

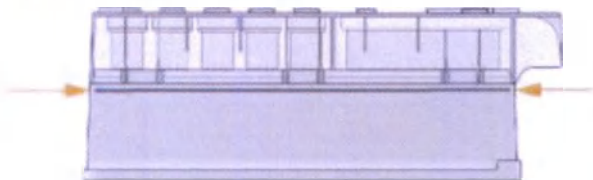
1. Выберите «Импорт образцов» (Import Samples) и найдите расположение файла информации об испытуемых образцах. Можно импортировать файлы двух типов.
 - На экране создания прогона (Create Run) выберите «Шаблон» (Template) для создания новой схемы расположения образцов на планшете. Файл шаблона содержит корректные заголовки столбцов для импорта. Введите в каждый столбец информацию об испытуемых образцах. Удалите информацию примера в неиспользованных лунках, а затем сохраните файл.
 - Используйте файл информации об испытуемых образцах, который был экспортирован из модуля анализа, используя раздел «Экспорт» (Export).
2. Для отображения схемы расположения образцов на планшете выберите пиктограмму «Печать» (Print).
3. Выберите «Печать» (Print) для печати схемы расположения образцов на планшете в качестве справки для приготовления библиотек.
4. Выберите «Сохранить прогон» (Save Run).

Подготовка картриджа с реагентами

Ниже приведены инструкции, описывающие, как разморозить картридж с реагентами с помощью водяной бани комнатной температуры.

1. Извлеките картридж с реагентами из места хранения при температуре от -15 °C до -25 °C.
2. Поместите картридж с реагентами на водяную баню, содержащую достаточное количество деионизированной воды комнатной температуры, чтобы погрузить основание картриджа с реагентами до уровня воды, отпечатанного на картридже с реагентами. Не допускайте превышения максимального уровня воды.

Рисунок 1 Максимальный уровень воды



3. Оставьте картридж с реагентами для размораживания в воде комнатной температуры приблизительно на 60-90 мин или до полного размораживания.
4. Извлеките картридж с реагентами из воды и осторожно постучите им по столу, чтобы удалить воду из основания картриджа с реагентами. Высушите основание картриджа. Убедитесь, что вода не попала на картридж с реагентами сверху.

Визуальная проверка картриджа с реагентами

1. Переверните картридж с реагентами десять раз, чтобы перемешать оттаявшие реагенты, а затем проверьте, чтобы все положения оттаяли.

ПРИМЕЧАНИЕ

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03

| 9

Для гарантии правильного секвенирования принципиально важно, чтобы реагенты в картридже полностью оттаяли и перемешались.

2. Проведите визуальный осмотр реагентов в положениях 1, 2 и 4, чтобы убедиться, что они полностью перемешались и не содержат осадков.
3. Осторожно постучите картриджем по столу, чтобы устранить пузырьки воздуха в реагентах.

ПРИМЕЧАНИЕ

Трубки системы подачи образцов генетического секвенатора MiSeqDx доходят до дна каждого резервуара для отбора реагентов, поэтому важно, чтобы в резервуарах не было пузырьков воздуха.

4. До готовности к началу прогона поместите картридж с реагентами на лед или отставьте при температуре от 2 °C до 8 °C (до 6 часов).

Для получения лучших результатов переходите непосредственно к загрузке образца и постановке прогона.

Подготовка испытуемых образцов к секвенированию

Для получения указаний о том, как приготовить библиотеки испытуемых образцов для секвенирования, включая разведение и объединение библиотек, см. раздел о приготовлении библиотек в Инструкции по применению.

Разведение библиотек испытуемых образцов зависит от сложности олигонуклеотидных пулов. Плотность кластеров на генетическом секвенаторе MiSeqDx необходимо оптимизировать, и оптимальная плотность кластеров изменяется в зависимости от конкретной приготовленной библиотеки и тест-системы.

Загрузка библиотек испытуемых образцов в картридж

Как только картридж с реагентами полностью оттаял и готов к использованию, Вы готовы к загрузке испытуемых образцов в картридж.

1. Чтобы проколоть прокладку-уплотнитель с мембраной из алюминиевой фольги над резервуаром на картридже с реагентами, маркированным «Загрузка образцов» (**Load Samples**), используйте отдельный чистый пустой наконечник для пипетки на 1 мл.

ПРИМЕЧАНИЕ

Не прокалывайте прокладку в каких-либо других положениях реагентов. Прокол прокладки в других положениях реагентов осуществляется автоматически во время прогона.

2. Перенесите пипеткой 600 мкл образца смешанных библиотек из разведенной библиотеки ампликонов (**Diluted Amplicon Library, DAL**) в резервуар «Загрузка образцов». Избегайте касания прокладки-уплотнителя с мембраной из алюминиевой фольги.
3. Проверьте наличие пузырьков воздуха в резервуаре после загрузки образца. При наличии пузырьков воздуха осторожно постучите картриджем по столу, чтобы выпустить пузырьки.

Рисунок 2 Загрузка библиотек



4. Переходите непосредственно к стадиям установки прогона, используя интерфейс операционного программного обеспечения MiSeq Operating Software (MOS).

Установки прогона

Подробные инструкции по установке прогона см. в документе *Справочное руководство к MOS версия 2 генетического секвенатора MiSeqDx (документ № 1000000021961)*.

1. Введите имя пользователя и пароль в программное обеспечение локального менеджера прогона генетического секвенатора MiSeqDx.
2. На главной странице программного обеспечения MOS выберите «Последовательность» (Sequence).
3. Выберите прогон из перечня, затем выберите «Далее» (Next).
На экране в следующем порядке открывается следующая серия установок: «Загрузите проточную ячейку» (Load Flow Cell), «Загрузите реагенты» (Load Reagents), «Просмотр» (Review) и «Предварительная проверка прогона» (Pre-Run check).
4. При появлении на экране «Загрузите проточную ячейку» очистите отсек для ячейки, а затем загрузите проточную ячейку.
5. Закройте фиксатор проточной ячейки и дверцу отсека проточной ячейки.
Перед началом прогона и фиксатор, и дверца отсека должны быть закрыты. После загрузки проточной ячейки программное обеспечение считывает и регистрирует РЧИД (RFID). В нижнем правом углу экрана появляется подтверждение, что РЧИД (RFID) успешно прочитан.
6. Для загрузки флакона с Буфером MiSeq Dx SBS (PR2) (MiSeqDx SBS Solution (PR2)) следуйте подсказкам программного обеспечения, убедитесь, что флакон для отходов пуст, и загрузите картридж с реагентами.
Как только флакон с Буфером MiSeq Dx SBS (PR2) (MiSeqDx SBS Solution (PR2)) и картридж с реагентами загружены, программное обеспечение считывает и регистрирует РЧИД(RFID). В нижнем правом углу экрана появляется подтверждение, что РЧИД(RFID) успешно прочитан.
7. При начале прогона открывается экран «Секвенирование» (Sequencing). Этот экран обеспечивает визуальное представление хода прогона, включая значения интенсивности и качества (Q-оценка).

Результаты

Анализ в режиме реального времени (RTA) представляет собой встроенное программное обеспечение, которое выполняет анализ изображений и распознавание азотистых оснований и присваивает каждому азотистому основанию оценку качества для каждого цикла секвенирования. После завершения основного анализа модуль на генетическом секвенаторе MiSeqDx, выбранный в разделе «Создайте прогон с помощью локального менеджера прогона» на странице 6, начинает дополнительный анализ, как описано в данном разделе.

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03 | 11

Демультиплексирование

Демультиплексирование осуществляет сравнение каждого прочтения индекса последовательности (Index Read) с индексными последовательностями, указанными для прогона. На этой стадии качество не учитывается.

Прочтения индексов идентифицируют, используя следующие стадии:

- Образцы нумеруют, начиная с 1, в том порядке, в котором они перечислены для прогона.
- Образец под номером 0 резервируется для кластеров, которые не были соотнесены с образцом.
- Кластеры соотносят с образцом при точном совпадении с индексной последовательностью или при наличии не более одного несовпадения на одно прочтение индекса.

Генерирование файла FASTQ

После демультиплексирования программное обеспечение генерирует файлы промежуточного анализа в формате FASTQ, который представляет собой текстовый формат, используемый для отображения последовательностей. Файлы FASTQ содержат прочтения для каждого образца и соответствующее значение качества. Любые контроли используемые для прогона и кластеров, не прошедшие фильтр, исключаются.

Каждый файл FASTQ содержит прочтения последовательности только для одного испытуемого образца, название которого включено в название файла FASTQ. В протоколе для соматических вариантов на один испытуемый образец генерируется четыре файла FASTQ (по два на олигонуклеотидный пул), два из Прочтения 1 и два из Прочтения 2. Файлы FASTQ являются основными файлами ввода для выравнивания.

Выравнивание

На стадии выравнивания используется включенный алгоритм Смита-Уотермана, который выравнивает кластеры каждого испытуемого образца с последовательностями ампликонов, указанными в файле манифеста.

Включенный алгоритм Смита-Уотермана осуществляет полуглобальное выравнивание последовательностей для определения областей одинаковых регионов между двумя последовательностями. Вместо сравнения полноразмерной последовательности алгоритм Смита-Уотермана осуществляет сравнение сегментов всех возможных вариантов длины.

Каждое парно-концевое прочтение оценивается в соответствие с его выравниванием с соответствующими последовательностями зонда для данного прочтения.

- Прочтение 1 оценивают относительно обратного комплементарного олигонуклеотида, специфичного к расположенному ниже локусу (Downstream Locus-Specific Oligo, DLSO).
- Прочтение 2 оценивают по комплементарному олигонуклеотиду, специфичному к расположенному выше локусу (Upstream Locus-Specific Oligo, ULSO).
- Если начало прочтения совпадает с последовательностью зонда не более чем с тремя различиями (несовпадениями или сдвигами из-за приводящих к ним инсерций или делеций), выравнивание прочтения осуществляется по всей длине с ампликоном-мишенью для этой последовательности.
- Инделлы в регионе DLSO и ULSO не определяются с используемым вариантом химии. Результаты выравнивания регистрируются в файлах выравнивания (файлы в формате BAM). Прочтения проходят через фильтр для результатов выравнивания на основании частоты несовпадений по всей интересующей области или полноразмерного ампликона в зависимости от длины ампликона. Прочтения, не прошедшие через фильтр,

записываются в файлах выравнивания, но помечаются как не выровненные и не используются в определении вариантов.

Определение вариантов

Программа определения вариантов (Pisces) предназначена для определения вариантов ОНВ, МНВ и вариантов с инсерциями/делециями в библиотеках, приготовленных для прибора.

Отчеты и дополнительные выходные файлы

Модули анализа вариантов создают отчеты в формате PDF и в формате с разделителями табуляций (*.txt), в которых отображены такие показатели, как глубина секвенирования и количество вариантов. Модули также создают выходные файлы, такие как файлы в формате VCF и файлы в формате распознавания геномных вариантов (gVCF).

Методики контроля качества

Программное обеспечение геномного секвенатора MiSeqDx выполняет оценку каждого прогона, испытуемого образца и распознавание азотистых оснований на основании показателей контроля качества. Оценке также подлежат образцы положительного и отрицательного контроля, включенные в процессе приготовления библиотеки. Оценку результатов контроля секвенирования для контрольных образцов осуществляют следующим образом:

- Если частота распознавания в контроле без матрицы (No Template Control) составляет >10%, возможно, произошла ошибка в процессе прохождения образцов, неправильная запись индексных праймеров или контаминация контрольного образца. Протокол считают невыполненным, и весь протокол необходимо повторить, начиная с этапа приготовления библиотеки.
- Для образца положительного контроля должен быть получен ожидаемый результат. Если в положительном контроле получен результат, отличный от ожидаемого, возможно, произошла ошибка в процессе прохождения образцов или неправильная запись индексных праймеров. Весь протокол необходимо повторить, начиная с этапа приготовления библиотеки.

Рабочие характеристики

В исследованиях герминальных вариантов для приготовления библиотек использовали либо тест-систему MiSeqDx Муковисцидоз Вариант анализа 139, либо набор реагентов TruSeq Custom Amplicon Kit Dx. В этих двух наборах для приготовления библиотек используются идентичные реагенты, и рабочий процесс отличается только одним — количеством циклов полимеразной цепной реакции (ПЦР), 25 и 28, соответственно. Как продемонстрировано в исследовании по количеству вносимой ДНК с использованием набора реагентов TruSeq Custom Amplicon Kit Dx, дополнительные циклы ПЦР позволяют вносить меньшее количество ДНК (50 нг) по сравнению с MiSeqDx Муковисцидоз Вариант анализа 139 (250 нг). Библиотеки, приготовленные с использованием MiSeqDx Муковисцидоз Вариант анализа 139, секвенировали с помощью реагентов для секвенирования, поставляемых в наборе. Библиотеки, приготовленные с помощью набора реагентов TruSeq Custom Amplicon Kit Dx, секвенировали с помощью Набора реагентов ИВД MiSeq Dx v3 (MiSeq Dx Reagent Kit v3) для секвенирования нуклеиновых кислот. В последнем случае реагенты для секвенирования позволяют повысить выход по сравнению с реагентами для MiSeqDx Муковисцидоз Вариант анализа 139.

В исследованиях соматических вариантов мутаций использовали набор реагентов TruSeq Custom Amplicon Kit Dx с помощью Набора реагентов ИВД MiSeq Dx v3 (MiSeq Dx Reagent Kit v3) для секвенирования нуклеиновых кислот.

Все исследования были выполнены на генетическом секвенаторе MiSeqDx. Для приготовления библиотек для секвенирования использовали любой из протоколов, для герминальных вариантов или для соматических вариантов, описанных для набора реагентов TruSeq Custom Amplicon Kit Dx, после чего анализ проводили с использованием модуля для герминальных вариантов или модуля для соматических вариантов соответственно, с двумя исключениями. В исследованиях на примере одного гена (проведение анализа герминальных вариантов; MiSeqDx Муковисцидоз Вариант анализа 139) или двух генов (проведение анализа соматических вариантов) в качестве репрезентативных панелей мутаций использовали протоколы и модули анализа, специфичные для данной тест-системы.

Примечание: состав по ампликону суммирован относительно цепочки ДНК, которую секвенировали. Для ампликонов созданных для минус цепи референсный состав генома обратно комплиментарный (например, поли-А регионы на минус цепи ампликонов соответствуют поли-Т регионам на референсном геноме).

Определения расчетов, используемых в рабочих характеристиках

1. Положительный процент соответствия (Positive Percent Agreement, PPA) рассчитывают как долю локусов, классифицированных стандартным методом как варианты, верно определенным методом.

- $(N \text{ вариантов локусов, верно определенных методом}) / (\text{общее } N \text{ локусов с вариантами})$

Варианты локусов, определенные методом, согласующиеся с определенным референсным методом, являются истинно положительными (true positives, TP). Варианты локусов, определенные методом как референсные или содержащие другие варианты, являются ложно отрицательными (false negatives, FN).

2. Отрицательный процент соответствия (Negative Percent Agreement, NPA) рассчитывают как долю локусов, классифицированных референсным методом как дикий тип, верно определенных методом.

- $(N \text{ локусов дикого типа, верно определенных методом}) / (\text{общее } N \text{ локусов дикого типа})$

Локусы дикого типа, определенные методом, согласующиеся с определенными референсным методом, являются истинно отрицательными (true negatives, TN). Локусы дикого типа, определенные методом как содержащие варианты, являются ложно положительными (false positives, FP).

3. Общий процент соответствия (Overall percent agreement, OPA) рассчитывают как долю локусов, верно определенных методом по сравнению с референсным методом.

- $((N \text{ вариантов локусов, верно определенных методом}) + (N \text{ локусов дикого типа, верно определенных методом})) / ((\text{общее } N \text{ вариантов локусов}) + (\text{общее } N \text{ локусов дикого типа}))$

4. В расчеты PPA, NPA и OPA не включают отсутствие определения (варианты или референсные локусы, не проходящие один или более фильтров качества). В двух исследованиях случаи отсутствия определения специально включали в соответствующий показатель «% верных определений» и отмечали включение случаев отсутствия определения в соответствующие таблицы.

5. Частоту определения рассчитывают как результат деления общего количества локусов, прошедших фильтры, на общее количество секвенированных положений на хромосомах 1-22; хромосомы X и Y исключают. Этот показатель не учитывает соответствие определений с референсным методом.

Характеристики производительности, относящиеся к факторам, предшествующим анализу (например, к методам выделения или количеству вносимой ДНК), см. в

соответствующем разделе Инструкции по применению, который относится к методике приготовления библиотек.

Индексирование испытуемых образцов

Индексные праймеры для испытуемых образцов, который вводятся в процессе приготовления библиотеки, присваивают каждому образцу ДНК уникальную последовательность, что позволяет объединять множество испытуемых образцов в одном прогоне секвенирования. Индексирование испытуемых образцов используется в обоих протоколах — для определения герминальных вариантов и соматических вариантов.

Для верификации способности метода к единообразному генотипированию данного испытуемого образца среди различных комбинаций индексных праймеров было исследовано в общей сложности 96 индексов испытуемых образцов с помощью репрезентативного метода, предназначенного для определения ряда генов во всех 23 хромосомах человека, охватывающих 12 588 оснований на одну цепь ДНК. Поскольку Y-хромосома не содержит достоверно определяемых областей, ее оценку не проводили. Было исследовано восемь уникальных испытуемых образцов с 12 различными комбинациями индексных праймеров на один образец. Результаты определения испытуемых образцов с помощью модуля анализа для герминальных вариантов сравнивали с базой данных Platinum Genomes, версия 2016-01. Для каждой из 96 комбинаций индексов PPA (ОНВ и инделы) превышал 97% (истинно положительные определения составляли 70 для ОНВ, 38 для инсерций, 36 для делеций), а NPA составлял 100% (по меньшей мере 23 440 стандартных положений на одну комбинацию индексов). Независимо было проведено исследование одного индекса, чтобы удостовериться, что химический метод секвенирования с помощью Набора реагентов ИВД MiSeq Dx v3 (MiSeq Dx Reagent Kit v3) для секвенирования нуклеиновых кислот может поддерживать менее 8 испытуемых образцов (предшествующий химический метод с помощью универсального набора реагентов MiSeqDx 1.0 был ограничен минимум 8 образцами). Показатели PPA для одного индекса составляли 98,9% (180/182) для ОНВ, 100% (38/38) для инсерций и 100% (46/46) для делеций. NPA составлял 100% (23 856/23 856).

Для измерения точности индекса при частотах соматических вариантов от 0,05 до 0,10 с использованием модуля для определения соматических вариантов было исследовано двенадцать повторностей (24 библиотеки) испытуемого образца (для определения соматических вариантов использовали 2 комбинации индексов на одну повторность). PPA составлял 100% для ОНВ (64/64), инделов (11/11) и делеций (19/19). NPA составлял 100% (по меньшей мере 11 590 стандартных положений на одну комбинацию индексов) для всех комбинаций индексов.

Перенос образца

Протокол генетического секвенатора MiSeqDx включает в себя приготовление библиотеки и секвенирование множества образцов с добавлением контрольных образцов, обрабатываемых одновременно. Чтобы оценить возможность получения ложно положительных результатов за счет контаминации вследствие переноса образца из одной лунки в другую во время приготовления библиотек испытуемых образцов, а также контаминации вследствие переноса из одного прогона в другой между выполняемыми подряд прогонами секвенирования, было проведено исследование влияния переноса образца из одной пробы в другую на результаты исследования. Были использованы соматические варианты, поскольку их можно обнаружить при более низкой частоте встречаемости аллеля, чем герминальные варианты.

Испытуемые образцы состояли из четырех образцов геномной ДНК выделенной из клеточных линий, каждый из которых содержал различные панели мутаций в репрезентативном анализе для двух генов. Образцы были подобраны так, чтобы мутация одного положения в одном из них имела референсную (дикого типа) последовательность в других.

Перенос образца из одной лунки в другую рассматривают как потенциальный фактор риска контаминации на стадиях обработки вручную (перенос пипеткой, перемешивание испытуемого образца и т. д.). Для оценки переноса образца из одной лунки в другую проводили два испытательных прогона:

- Со схемой нанесения образцов на планшет в шахматном порядке, где испытуемый образец с высоким исходным содержанием геномной ДНК (гДНК), содержащей мутацию в гене 1, чередовали с испытуемым образцом с низким исходным содержанием гДНК, содержащей мутацию в гене 2.
- Со схемой нанесения образцов на планшет в шахматном порядке, где испытуемый образец с высоким исходным содержанием геномной ДНК (гДНК), содержащей мутацию в гене 2, чередовали с испытуемым образцом с низким исходным содержанием гДНК, содержащей мутацию в гене 1.

В каждом прогоне в общей сложности в 12 повторностях проводили оценку ложно положительных результатов (например, мутации в гене 1, регистрируемой в лунке, предназначенной для мутантного образца по гену 2, или наоборот).

Перенос образца из одного прогона в другой рассматривают как фактор риска контаминации, потенциально создаваемый за счет остатков предыдущего прогона секвенирования. Чтобы определить, происходит ли перенос между прогонами секвенирования, готовили две плашки, каждая из которых содержала 11 повторностей одного уникального образца с высоким исходным содержанием гДНК и отрицательный контрольный образец, выполняли их секвенирование подряд на одном генетическом секвенаторе MiSeqDx и проводили оценку ложно положительных результатов. Первый прогон содержал 11 повторностей мутантного образца по гену 2 и один отрицательный контрольный образец. Второй прогон содержал 11 повторностей мутантного образца по гену 1 и 1 отрицательный контрольный образец. Сначала проводили секвенирование библиотеки образца с мутацией по гену 2 с последующим прогоном секвенирования библиотеки образца с мутацией по гену 1, а затем проводили еще один повторный прогон секвенирования библиотеки образца с мутацией по гену 2. Если в прогоне образца с мутацией по гену 1 наблюдали любую из мутаций по гену 2 и наоборот, это указывало на контаминацию из одного прогона в другой.

Ни одного ложно положительного результата (0/24, 0%) за счет переноса *из одной лунки в другую* не было зарегистрировано. Все ожидаемые мутации были выявлены.

Ни одного ложно положительного результата (0/24, 0%) за счет переноса *из одного прогона в другой* не было зарегистрировано. Все ожидаемые мутации были выявлены.

Ни одного ложно положительного результата (0/48, 0%) за счет *общего* переноса (объединенного переноса из одной лунки в другую и из одного прогона в другой) не было зарегистрировано.

Рабочие характеристики для герминальных вариантов

В описанных в настоящем документе исследованиях для анализа данных секвенирования использовали модуль для определения герминальных вариантов, за исключением исследований с использованием панели одного гена, где использовали модуль, специфичный для данного метода.

Точность исследования

Исследование было проведено для оценки точности работы генетического секвенатора MiSeqDx с Набором реагентов ИВД MiSeq Dx v3 (MiSeq Dx Reagent Kit v3) для секвенирования нуклеиновых кислот и ДНК высокого качества. В этом исследовании была использована репрезентативная методика для оценки различных генов, включающих 12 588 оснований в 23 различных хромосомах с использованием 150 ампликонов. Поскольку Y-

хромосома не содержит достоверно определяемых областей, ее оценку не проводили. В исследовании использовали 12 уникальных испытуемых образцов от одной семьи — двух родителей и 10 детей, множественно секвенируемых в нескольких лабораториях и с использованием различных методологий секвенирования. Пять испытуемых образцов получено от женщин и семь — от мужчин. Каждый испытуемый образец исследовали в двух повторностях. Точность определяли для ОНВ, инсерций и делеций путем сравнения данных исследования с хорошо охарактеризованной референсной базой данных. Референсная база данных последовательностей (Platinum Genomes, версия 2016-01) была получена путем комбинирования нескольких методологий секвенирования, опубликованных данных и наследственной информации. Достоверные области генома были определены данным референсным методом, если не указано иное. В общей сложности было выполнено 8 прогонов испытуемых образцов, таблицы, представленные для демонстрации точности, включают данные первого прогона.

Таблица 1 содержит данные исследования, представлен процент положительного и отрицательного соответствия по каждому испытуемому образцу, где для расчета PPA результаты определения вариантов сравнивают с результатами, полученными хорошо охарактеризованным составным референсным методом. Три типа вариантов — ОНВ, инсерции и делеции — объединены. Для расчетов NPA, поскольку референсным методом получают только результаты для однонуклеотидных вариантов и инсерций/делеций, результаты отсутствия вариантов оснований сравнивают с референсной последовательностью генома человека hg19.

Таблица 1 Соответствие результатов определения оснований с помощью генетического секвенатора MiSeqDx на один образец

Испытуемый образец	Средняя частота определения	Всего вариантов	Всего TP вариантов	Всего FN вариантов	Всего неопределено	Общее количество TN определений	PPA	NPA	OPA
NA12877	>99,9	152	152	0	4	24024	100	100	100
NA12878	>99,9	270	266	0	4	23856	100	100	100
NA12879	>99,9	192	190	1	1	24054	99,5	100	>99,9
NA12880	>99,9	222	220	0	6	24052	100	100	100
NA12881	>99,9	250	247	1	2	23862	99,6	100	>99,9
NA12882	>99,9	200	196	2	2	23962	99,0	100	>99,9
NA12883	>99,9	226	224	0	6	23870	100	100	100
NA12884	>99,9	228	226	1	1	23942	99,6	100	>99,9
NA12885	>99,9	244	240	2	2	23942	99,2	100	>99,9
NA12886	>99,9	230	228	1	1	23888	99,6	100	>99,9
NA12888	>99,9	216	216	0	4	24002	100	100	100
NA12893	>99,9	236	234	0	2	23810	100	100	100

Репрезентативная тест-система состояла из 150 ампликонов, предназначенных для покрытия геномной информации различного содержания. GC-состав ампликонов находился в диапазоне 26-87%. Ампликоны также содержали ряд однонуклеотидных (например, поли-А, поли-Т), динуклеотидных и тринуклеотидных повторов. Данные для каждого ампликона представлены в таблице 2, такой состав нужен, чтобы определить влияние содержащейся в нем геномной информации на % верных определений. % верных определений составляет определение вариантов и стандарта, меньше 100% даже при наличии неверного определения или его отсутствия. Если определение варианта не проходит через один или более фильтров (например, в случае недостаточного покрытия), то Появляются неопределенные варианты.

Из восьми FN вариантов из таблицы 2 в семи встречалась инсерция инсерция 1 п. о. в ампликоне 111, который также содержал гомополимер поли-А, а GC-состав в нем составлял 0,29. Оставшийся 1 FN (неверное определение) был связан с ожидаемым гетерозиготным ОНВ в ампликоне 125 с GC-составом 0,68, определенным как гомозиготный вариант. Частота ОНВ вариантов составляла 0,71, что превышает порог классификации гомозиготных вариантов, составляющий 0,70. Ампликоном с самым низким % верных определений (98,2%) был ампликон 17, в котором было 40 неопределенных вариантов, и он содержал АТ повторы, а GC-состав - 27%.

Таблица 2 Точность работы прибора MiSeqDx на уровне ампликонов

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Количество азотистых оснований достоверных областях	Содержание геномной информации в ампликоне	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего неопределено	% верных определений
1	1	36450499	36450591	93	93	Индел	0,22	2232	0	0	100
2	1	109465122	109465200	79	79	Поли-А (5), поли-Ц (5), индел	0,38	1896	0	0	100
3	1	218353867	218353957	91	91	Индел	0,4	2184	0	0	100
4	1	223906657	223906748	92	92	Индел	0,49	2208	0	0	100
5	1	228526602	228526682	81	81	Поли-Г (5)	0,69	1944	0	0	100
6	1	236372039	236372108	70	70	Поли-Т (10), индел	0,39	1680	0	0	100
7	1	247812041	247812128	88	88	Поли-А (5), ЦТ (3), ТАА (3), индел	0,27	2112	0	0	100
8	2	55862774	55862863	90	90	Индел	0,28	2160	0	0	100
9	2	87003930	87004009	80	80	Индел	0,38	1920	0	0	100
10	2	177016721	177016805	85	81	Н/П	0,65	1944	0	0	100
11	2	186625727	186625801	75	75	Поли-А (8)	0,35	1800	0	0	100
12	2	190323504	190323591	88	88	Поли-Т (5)	0,42	2112	0	0	100
13	2	200796740	200796826	87	87	Поли-Т (5), индел	0,31	2088	0	0	100
14	2	212245049	212245139	91	91	Поли-Т (5), поли-А (6), индел	0,3	2184	0	0	100

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Количество азотистых оснований в достоверных областях	Содержание геномной информации в ампликоне	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего не определено	% верных определений
15	2	228147052	228147144	93	93	Н/П	0,43	2232	0	0	100
16	2	235016350	235016422	73	73	Поли-Т (5), инделы	0,42	1752	0	0	100
17	3	4466229	4466321	93	93	АТ (3), инделы	0,27	2192	0	40	98,2
18	3	46620561	46620643	83	83	Н/П	0,43	1992	0	0	100
19	3	49851331	49851400	70	70	ЦТ (3), инделы	0,49	1680	0	0	100
20	3	189713161	189713248	88	88	Поли-А (5), поли-Т (5), поли-А (9), ТГ (3)	0,41	2112	0	0	100
21	3	190106030	190106104	75	74	Инделы	0,57	1774	0	2	99,9
22	4	2233667	2233744	78	78	Поли-А (6)	0,26	1872	0	0	100
23	4	7780541	7780637	97	97	Поли-Г (6), поли-Т (5), поли-А (5)	0,42	2328	0	0	100
24	4	15688604	15688681	78	78	Н/П	0,29	1872	0	0	100
25	4	56236521	56236586	66	62	Поли-А (5), инделы	0,36	1488	0	0	100
26	4	102839244	102839314	71	69	Поли-А (5)	0,46	1656	0	0	100
27	4	164446743	164446804	62	62	Поли-А (7), инделы	0,27	1488	0	0	100
28	5	1882081	1882158	78	75	Н/П	0,78	1800	0	0	100
29	5	14769061	14769144	84	84	ГТ (3), ЦЦА (3)	0,62	2016	0	0	100
30	5	41069808	41069871	64	64	Н/П	0,39	1536	0	0	100
31	5	74077114	74077196	83	83	Поли-А (6), инделы	0,3	1992	0	0	100
32	5	147475343	147475409	67	67	Поли-Т (5)	0,37	1608	0	0	100
33	5	149323731	149323821	91	91	ЦТ (4), АГ (3)	0,55	2184	0	0	100
34	5	155662213	155662287	75	75	Инделы	0,43	1800	0	0	100
35	6	6318713	6318814	102	102	Поли-Г (6)	0,68	2448	0	0	100
36	6	24949983	24950074	92	92	Инделы	0,63	2208	0	0	100
37	6	31084900	31084999	100	94	ГЦТ (5), инделы	0,61	2244	0	12	99,5
38	6	32147987	32148084	98	98	Поли-Т (5), ТЦТ (3), ЦГТ (3)	0,55	2352	0	0	100
39	6	32986864	32986958	95	95	Инделы	0,53	2280	0	0	100
40	6	33408498	33408583	86	86	Поли-Ц (6)	0,7	2064	0	0	100
41	6	41647401	41647495	95	94	Поли-Г (5),	0,61	2256	0	0	100

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03

| 20

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Количество азотистых оснований достоверных областей	Содержание геномной информации в ампликоне	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего не определено	% верных определений
						инделы					
42	6	112435865	112435955	91	91	Поли-А (5)	0,44	2184	0	0	100
43	7	22202076	22202148	73	73	Н/П	0,44	1752	0	0	100
44	7	66276100	66276187	88	88	Инделы	0,35	2112	0	0	100
45	7	77365735	77365821	87	87	Поли-А (7), АГ (4)	0,26	2088	0	0	100
46	7	110939946	110940030	85	85	Инделы	0,38	2040	0	0	100
47	7	128533468	128533557	90	90	Поли-Г (5), инделы	0,62	2160	0	0	100
48	7	149503875	149503965	91	91	Поли-Г (6), поли-Ц (6), инделы	0,71	2184	0	0	100
49	7	154404519	154404599	81	66	Н/П	0,31	1584	0	0	100
50	7	156476507	156476599	93	93	Инделы	0,35	2232	0	0	100
51	8	1817312	1817394	83	83	Н/П	0,42	1992	0	0	100
52	8	24811020	24811109	90	89	Поли-Г (7), ЦТЦ (4), инделы	0,61	2113	0	23	98,9
53	8	76518625	76518691	67	67	Инделы	0,3	1608	0	0	100
54	9	103054909	103055006	98	98	Поли-Г (6)	0,67	2352	0	0	100
55	9	105586150	105586214	65	65	Инделы	0,32	1560	0	0	100
56	9	107620823	107620918	96	96	Н/П	0,49	2304	0	0	100
57	9	123769149	123769231	83	83	АТ (3)	0,37	1992	0	0	100
58	9	138995345	138995441	97	97	Поли-Ц (6), инделы	0,68	2328	0	0	100
59	10	5987120	5987198	79	78	Поли-Г (5), инделы	0,47	1872	0	0	100
60	10	11784629	11784726	98	91	ГЦ (3)	0,87	2184	0	0	100
61	10	27317777	27317855	79	79	Поли-Т (5)	0,3	1896	0	0	100
62	10	33018351	33018440	90	90	Поли-А (5), поли-Т (5)	0,2	2160	0	0	100
63	10	45084159	45084253	95	95	Инделы	0,35	2280	0	0	100
64	10	55892599	55892687	89	88	АЦ (11), инделы	0,42	2102	0	10	99,5
65	10	101611250	101611329	80	80	Н/П	0,49	1920	0	0	100
66	10	118351373	118351453	81	81	Н/П	0,51	1944	0	0	100
67	11	8159816	8159912	97	96	Н/П	0,45	2304	0	0	100
68	11	30177648	30177717	70	70	Инделы	0,46	1680	0	0	100
69	11	47470345	47470444	100	100	Н/П	0,65	2400	0	0	100

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03

| 21

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Количество азотистых оснований достоверных областей	Содержание геномной информации в ампликоне	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего не определено	% верных определений
70	11	59837679	59837740	62	62	Индел	0,37	1488	0	0	100
71	11	64418856	64418957	102	102	Н/П	0,59	2448	0	0	100
72	11	93529612	93529684	73	73	Поли-А (5)	0,4	1752	0	0	100
73	11	101347052	101347136	85	85	Н/П	0,42	2040	0	0	100
74	11	102477336	102477426	91	91	Поли-Г (6)	0,55	2184	0	0	100
75	11	118406285	118406369	85	85	Индел	0,53	2040	0	0	100
76	11	120357801	120357885	85	85	Поли-А (5), ЦА (3), индел	0,34	2040	0	0	100
77	11	125769313	125769397	85	85	ГА (3)	0,52	2040	0	0	100
78	12	2834770	2834853	84	84	Поли-Ц (5), индел	0,52	2016	0	0	100
79	12	26811004	26811096	93	93	Поли-А (7), АЦ (4)	0,33	2232	0	0	100
80	12	30881766	30881846	81	81	Н/П	0,49	1944	0	0	100
81	12	88474105	88474175	71	71	Поли-А (6)	0,35	1704	0	0	100
82	12	120966872	120966966	95	95	Поли-Г (5)	0,68	2280	0	0	100
83	13	24167504	24167576	73	73	Н/П	0,52	1752	0	0	100
84	13	25816961	25817049	89	88	Поли-А (5), поли-Т (7), поли-А (7), индел	0,22	2112	0	0	100
85	13	44880112	44880200	89	89	Индел	0,49	2136	0	0	100
86	13	77665218	77665294	77	77	Индел	0,39	1848	0	0	100
87	14	31619327	31619393	67	67	ГА (3), ТА (3)	0,39	1608	0	0	100
88	14	39517884	39517966	83	83	Н/П	0,25	1992	0	0	100
89	14	46958962	46959034	73	72	Поли-Т (5), индел	0,19	1727	0	1	99,9
90	14	58050030	58050110	81	81	Индел	0,38	1944	0	0	100
91	14	82390559	82390649	91	91	Индел	0,35	2184	0	0	100
92	14	92549544	92549609	66	66	Поли-А (5)	0,41	1584	0	0	100
93	14	102808496	102808589	94	94	Индел	0,62	2256	0	0	100
94	15	43170751	43170848	98	96	Поли-Ц (5)	0,45	2304	0	0	100
95	15	63446149	63446216	68	68	Индел	0,25	1632	0	0	100
96	15	77879807	77879901	95	93	Поли-Г (5), индел	0,68	2232	0	0	100
97	15	81625334	81625428	95	95	Поли-Т (6)	0,43	2280	0	0	100
98	15	85438263	85438334	72	71	Индел	0,65	1704	0	0	100
99	15	89817413	89817503	91	91	Н/П	0,36	2184	0	0	100

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Количество азотистых оснований достоверных областей	Содержание геномной информации в ампликоне	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего не определено	% верных определений
100	15	89864274	89864343	70	70	Индел	0,56	1680	0	0	100
101	16	1894910	1894972	63	63	Н/П	0,27	1512	0	0	100
102	16	28997904	28997998	95	95	Поли-Ц (5)	0,67	2280	0	0	100
103	16	53682908	53682994	87	87	ТА (3)	0,41	2088	0	0	100
104	16	57954406	57954509	104	104	Поли-Ц (5)	0,67	2496	0	0	100
105	16	85706375	85706465	91	91	Поли-Т (5), индел	0,37	2184	0	0	100
106	17	3563920	3564008	89	89	ГЦ (3)	0,64	2136	0	0	100
107	17	3594191	3594277	87	87	Поли-Ц (5), индел	0,67	2088	0	0	100
108	17	3970090	3970180	91	91	Индел	0,46	2184	0	0	100
109	17	16084945	16085037	93	93	Индел	0,26	2232	0	0	100
110	17	33998759	33998849	91	89	Поли-Т (5)	0,54	2136	0	0	100
111	17	39589691	39589774	84	82	Поли-А (13), индел (x2)	0,29	1944	7	17	98,8
112	17	41244394	41244484	91	91	Поли-А (5)	0,34	2184	0	0	100
113	17	45438866	45438957	92	92	Поли-А (7), АТ (3), АТ (4), АТ (4), индел	0,26	2208	0	0	100
114	17	61502432	61502510	79	79	Индел	0,41	1887	0	9	99,5
115	17	64023582	64023667	86	86	Поли-Т (7)	0,22	2064	0	0	100
116	17	72308237	72308320	84	84	ГАГ (3)	0,62	2016	0	0	100
117	18	2616456	2616522	67	67	ГА (3)	0,31	1608	0	0	100
118	18	6980478	6980568	91	91	Н/П	0,37	2184	0	0	100
119	18	9888026	9888094	69	69	Поли-А (6), ТГ (3)	0,43	1656	0	0	100
120	18	38836999	38837073	75	75	Поли-А (5), индел	0,37	1800	0	0	100
121	18	47405382	47405462	81	81	ЦТЦ (3), индел	0,47	1944	0	0	100
122	18	54815665	54815749	85	85	ЦТ (3), индел	0,45	2040	0	0	100
123	18	59773996	59774060	65	65	Н/П	0,48	1560	0	0	100
124	19	625143	625241	99	99	Н/П	0,59	2376	0	0	100
125	19	18121418	18121491	74	74	Н/П	0,68	1775	1	0	99,9
126	19	18186574	18186643	70	70	Н/П	0,64	1680	0	0	100
127	20	746056	746149	94	94	Н/П	0,61	2256	0	0	100
128	20	10633195	10633276	82	82	АЦ (3)	0,59	1968	0	0	100
129	20	17705633	17705708	76	76	ЦТ (3)	0,58	1824	0	0	100

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Количество азотистых оснований достоверных областях	Содержание геномной информации в ампликоне	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего не определено	% верных определений
130	20	21766821	21766890	70	70	ГТ (3), ТГ (4), инделы	0,46	1680	0	0	100
131	20	25278421	25278521	101	101	Инделы	0,63	2424	0	0	100
132	20	50897302	50897368	67	67	Инделы	0,36	1608	0	0	100
133	20	62331904	62331994	91	88	Поли-Г (6)	0,73	2112	0	0	100
134	20	62690860	62690946	87	87	Инделы	0,57	2088	0	0	100
135	21	30300823	30300888	66	66	Инделы	0,35	1584	0	0	100
136	21	33694176	33694273	98	98	Поли-Т (6), ЦА (3)	0,54	2352	0	0	100
137	21	36710706	36710792	87	87	ГТ (3), инделы	0,39	2088	0	0	100
138	21	46644924	46644992	69	69	Поли-А (6), АГ (3), инделы	0,32	1656	0	0	100
139	21	46705575	46705664	90	90	Поли-Т (5), поли-А (6)	0,5	2160	0	0	100
140	22	25750774	25750873	100	100	Инделы	0,63	2400	0	0	100
141	22	32439233	32439329	97	97	Н/П	0,68	2328	0	0	100
142	22	37409844	37409940	97	97	Инделы	0,46	2328	0	0	100
143	22	37637596	37637694	99	99	Н/П	0,6	2376	0	0	100
144	22	47081347	47081438	92	92	Инделы	0,66	2208	0	0	100
145	X	15870424	15870492	69	69	Поли-Т (5)	0,26	1656	0	0	100
146	X	135288543	135288611	69	69	Поли-Ц (5)	0,62	1656	0	0	100
147	X	135290777	135290847	71	71	Н/П	0,52	1704	0	0	100
148	Y	2655397	2655461	65	0	Н/П	0,55	0	0	0	Н/П
149	Y	2655519	2655609	91	0	Н/П	0,48	0	0	0	Н/П
150	Y	2655609	2655679	71	0	Поли-А (5)	0,37	0	0	0	Н/П

Варианты, которые не были определены, сведены в таблице 3. В таблице представлены фильтры, которые привели к отсутствию определения. Инсерция в ампликоне 111 была отфильтрована в 9 из 16 случаев, при этом остальные семь случаев были определены как стандарт и, следовательно, являются ложно отрицательными.

Таблица 3 Сводные данные о вариантах, которые не были определены

Ампликон	Хромосома положение	Вариант	Содержание соответствующего ампликона	Фильтр	Пропущенные варианты	Ожидаемые варианты	FN определения
64	10:55892600	ТАЦ > Т	АС (11), 42% GC	R5x9 ¹	10	10	0
111	17:39589692	Ц > ЦА	Поли-А (13), 29% GC	R5x9	9	16	7

¹ R5x9: фильтр повторов. Вариант отфильтровывается, если вся последовательность варианта или ее участок повторяется в примыкающем к варианту положении в стандартном образце генома. Для этого требуется по меньшей мере 9 повторов в стандартном геноме, и учитываются только повторы длиной вплоть до 5 п. о.

Результаты секвенирования для образца NA12878 сравнивали с генотипом NA12878 высокой степени достоверности, установленным Национальным институтом стандартов и технологий (NIST) (v.2.19). В последовательности NIST из 150 ампликонов 92 ампликона полностью располагались внутри областей генома высокой степени достоверности, 41 ампликон частично перекрывался, и 17 ампликонов не перекрывались. В результате было получено 10 000 координат на одну повторность для сравнения. Распознанные неизменные азотистые основания сравнивали со стандартной последовательностью генома человека 19. Результаты определения точности приведены в таблице 4.

Таблица 4 Соответствие результатов распознавания азотистых оснований с помощью прибора MiSeqDx для образца NA12878 по сравнению с базой данных NIST

Испытуемый образец	Кол-во ампликонов	Средняя частота определения	Всего TP вариантов	Всего FN вариантов	Общее количество TN определений	Общее количество FP определений	PPA	NPA	OPA
NA12878	133	99,98	208	0	19380	0	100	100	100

Был проведен дополнительный анализ образцов для определения небольших инделов (инсерции или делеции) (таблица 5). В некоторых случаях инсерция или делеция была общей для двух или более испытуемых образцов, что отражено в столбце «Общее количество повторностей образцов с инсерцией или делецией». В таблицу 5 включены результаты для обеих повторностей 12 достоверных образцов. Общее содержание инсерций или делеций составляло 71 в диапазоне 1-24 п. о. по размеру для инсерций и 1-25 п. о. для делеций. Каждая из 69 инсерций или делеций была определена при проценте положительного соответствия 100%. Одна делеция (ампликон 64; делеция 2 п. о. (xp10 55892600 TAC>T) ни в одном случае не была определена верно, поскольку каждый из этих вариантов не был определен из-за фильтра R5x9⁵); поэтому было невозможно рассчитать PPA с исключением отсутствующих определений. Другая инсерция (инсерция 1 п. о. (xp17 39589692 C>CA) на ампликоне 111 также ни в одном случае не была определена верно, поскольку 9 вариантов не были определены из-за фильтра R5x9, а 7 определений были ложноотрицательными.

Таблица 5 Сводные данные определения инсерций или делеций с помощью прибора MiSeqDx

Ампликон	Хромосома	Положение	Размер проанализированного фрагмента	Тип и длина индела в ампликоне	Индел	Общее количество повторностей образцов с инсерцией или делецией	Всего не определено	Всего неверных определений инсерций или делеций	Всего верных определений инсерций или делеций	PPA
1	1	36450544	93	делеция 25 п. о.	GAAAATTTAATGAAACACATTGTCCT>G	2	0	0	2	100
2	1	109465165	79	делеция 3 п. о.	ACTT>A	12	0	0	12	100
3	1	218353908	91	делеция 23 п. о.	T>TTTTAATAGCAAAAAGAGGCTAGA	24	0	0	24	100
4	1	223906701	92	делеция 17 п. о.	GACAGACTGTGAGGAAGA>G	10	0	0	10	100
6	1	236372081	70	инсерция 5 п. о.	C>CTTAAG	10	0	0	10	100
7	1	247812083	88	инсерция 3 п. о.	C>CATG	10	0	0	10	100
8	2	55862804	90	инсерция 7 п. о.	T>TTTGGTAA	14	0	0	14	100
9	2	87003972	80	делеция 6 п. о.	TTATCTC>T	6	0	0	6	100
13	2	200796749	87	инсерция 5 п. о.	T>TTAAAA	24	0	0	24	100
14	2	212245090	91	инсерция 12 п. о.	C>CTGAAAATAGGAT	14	0	0	14	100
16	2	235016388	73	инсерция 2 п. о.	A>ATG	12	0	0	12	100
17	3	4466274	93	делеция 23 п. о.	TAACTTAAAAATTACAAAATAACCC>T	2	0	0	2	100
19	3	49851375	70	инсерция 9 п. о.	C>CCTGGCTCCT	4	0	0	4	100
21	3	190106071	75	делеция 1 п. о.	AG>A	20	0	0	20	100
25	4	56236567	66	делеция 8 п. о.	TAACCGAAA>T	12	0	0	12	100
27	4	164446785	62	инсерция 11 п. о.	T>TTATGGTATTGA	12	0	0	12	100
31	5	74077155	83	делеция 4 п. о.	TAGTA>T	10	0	0	10	100
34	5	155662255	75	инсерция 8 п. о.	G>GCCTACTGA	20	0	0	20	100
36	6	24950035	92	делеция 21 п. о.	CCCTGGGTGCTATAGCCCACCA>C	10	0	0	10	100
37	6	31084942	100	делеция 3 п. о.	GCTT>G	14	0	0	14	100
39	6	32986905	95	делеция 25 п. о.	CTTTCACCTTTCCCGTCTCATGCAAAG>C	12	0	0	12	100
41	6	41647442	95	делеция 23 п. о.	GGCATGAGGCTTGGTGACATGGCA>G	8	0	0	8	100

Ампликон	Хромосома	Положение	Размер проанализированного фрагмента	Тип и длина индел в ампликоне	Индел	Общее количество повторностей образцов с инсерцией или делецией	Всего не определено	Всего неверных определений инсерций или делеций	Всего верных определений инсерций или делеций	PPA
44	7	66276142	88	инсерция 1 п. о.	C>CT	16	0	0	16	100
46	7	110939983	85	делеция 4 п. о.	CAAGT>C	12	0	0	12	100
47	7	128533514	90	инсерция 1 п. о.	T>TC	24	0	0	24	100
48	7	149503916	91	делеция 4 п. о.	GGATA>G	8	0	0	8	100
50	7	156476548	93	делеция 11 п. о.	GAATCTGCACTT>G	12	0	0	12	100
52	8	24811064	90	делеция 1 п. о.	AG>A	24	0	0	24	100
53	8	76518677	67	инсерция 4 п. о.	T>TACTG	14	0	0	14	100
55	9	105586193	65	инсерция 4 п. о.	C>CAATT	2	0	0	2	100
58	9	138995370	97	делеция 21 п. о.	TCTGGGGGGCAGCCCCTGAGGG>T	14	0	0	14	100
59	10	5987158	79	делеция 3 п. о.	TAAC>T	10	0	0	10	100
63	10	45084202	95	делеция 16 п. о.	AGCGTCTATAACCAAAT>A	12	0	0	12	100
64	10	55892600	89	делеция 2 п. о.	TAC>T	10	10	0	0	Н/П
68	11	30177690	70	инсерция 2 п. о.	C>CTG	10	0	0	10	100
70	11	59837721	62	инсерция 8 п. о.	T>TTATGAAAA	12	0	0	12	100
75	11	118406328	85	делеция 8 п. о.	CAGTGTGGA>C	10	0	0	10	100
76	11	120357842	85	делеция 2 п. о.	CTT>C	10	0	0	10	100
78	12	2834814	84	инсерция 21 п. о.	T>TTCTCAGTACGGTGAACCCAG	24	0	0	24	100
84	13	25817002	89	инсерция 19 п. о.	C>CAAAATATAAAAAGCTCCCT	24	0	0	24	100
85	13	44880152	89	инсерция 4 п. о.	C>CCTGT	12	0	0	12	100
86	13	77665265	77	делеция 20 п. о.	ATCTATTTTCTAATAGACGGC>A	14	0	0	14	100
89	14	46958967	73	делеция 22 п. о.	TTTAAAAATTGAATGTGATAAAA>T	24	0	0	24	100
90	14	58050081	81	инсерция 4 п. о.	C>CTGAT	20	0	0	20	100
91	14	82390602	91	делеция 16 п. о.	CTTGCTCTATAAACCGT>C	10	0	0	10	100
93	14	102808554	94	делеция 5 п. о.	CGTGGA>C	10	0	0	10	100
95	15	63446199	68	делеция 6 п. о.	CAAAATT>C	12	0	0	12	100
96	15	77879862	95	делеция 25 п. о.	GCCCCTGAGCCAGCCTCCCGCTCTTA>G	14	0	0	14	100
98	15	85438311	72	инсерция 3 п. о.	C>CTTG	8	0	0	8	100
100	15	89864316	70	инсерция 4 п. о.	G>GCTAC	8	0	0	8	100
105	16	85706416	91	делеция 7 п. о.	ATTATTTC>A	16	0	0	16	100
107	17	3594276	87	делеция 1 п. о.	TG>T	2	0	0	2	100
108	17	3970133	91	инсерция 18 п. о.	A>ATCCTATTCTACTCTGAAT	10	0	0	10	100
109	17	16084985	93	инсерция 4 п. о.	A>AACAC	10	0	0	10	100
111	17	39589692	84	инсерция 1 п. о.	C>CA	16	9	7	0	0
112	17	39589739	84	инсерция 24 п. о.	T>TTCTGAAGGTCAAGTCTATCCCTGA	24	0	0	24	100
113	17	45438886	92	делеция 4 п. о.	CAGTG>C	12	0	0	12	100
114	17	61502459	79	делеция 12 п. о.	TTTGTATCTGCTG>T	20	0	0	20	100

Ампликон	Хромосома	Положение	Размер проанализированного фрагмента	Тип и длина индел в ампликоне	Индел	Общее количество повторностей образцов с инсерцией или делецией	Всего не определено	Всего неверных определений инсерций или делеций	Всего верных определений инсерций или делеций	PPA
120	18	38837054	75	инсерция 22 п. о.	T>TGTATCTTAGCAAAAGTTTCTCA	24	0	0	24	100
121	18	47405425	81	инсерция 3 п. о.	T>TGAG	20	0	0	20	100
122	18	54815706	85	делеция 2 п. о.	ACT>A	20	0	0	20	100
130	20	21766863	70	делеция 15 п. о.	TACTTGAGAACTGAGG>T	4	0	0	4	100
131	20	25278464	101	инсерция 5 п. о.	A>AGTGGG	20	0	0	20	100
132	20	50897361	67	инсерция 11 п. о.	G>GGAATGTCAGCC	24	0	0	24	100
134	20	62690925	87	делеция 16 п. о.	TCCTGGCTGGCCTGTGG>T	10	0	0	10	100
135	21	30300873	66	инсерция 11 п. о.	G>GATAAACTTTA	10	0	0	10	100
137	21	36710749	87	делеция 21 п. о.	ACTCAAGATAACTCATGTTATC>A	16	0	0	16	100
138	21	46644985	69	делеция 5 п. о.	GTTGTT>G	8	0	0	8	100
140	22	25750814	100	инсерция 6 п. о.	C>CAGGGCA	20	0	0	20	100
142	22	37409885	97	инсерция 5 п. о.	C>CTGTTT	2	0	0	2	100
144	22	47081407	92	делеция 10 п. о.	GGGCACAGGCA>G	12	0	0	12	100

Воспроизводимость

Для оценки точности работы прибора MiSeqDx было проведено два исследования на линиях клеток (исследование 1 и 2) или крови со сниженным количеством лейкоцитов с добавлением линий клеток с известной концентрацией клеток (исследование 2). В исследовании 1 использовали несколько приборов; второе исследование проведено в нескольких центрах.

Исследование 1

Воспроизводимость результатов для инструмента MiSeqDx установили с использованием двух инструментов, двух операторов и двух партий реагентов; всего провели восемь серий анализов. Оценка репрезентативности, образцы и метод сравнения были теми же, что для исследования точности, описанного выше.

Результаты, приведенные в пересчете на ампликон для каждого инструмента (таблица 6) отражают воспроизводимость распознаваний между инструментами. % корректных распознаваний включал как некорректные распознавания, так и нераспознанные нуклеотиды (один или более фильтров не подходили определяемому варианту). Инструменты получили схожие количества отсутствия распознавания и некорректного распознавания в зависимости от ампликона.

Таблица 6 Результаты исследования воспроизводимости для инструментов MiSeqDx (на уровне ампликона)

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов достоверных областях	Содержание ампликона в геноме	GC-состав	MiSeqDx 1			MiSeqDx 2		
								Всего распознано корректно	Всего распознано некорректно	Всего не распознано	Всего распознано корректно	Всего распознано некорректно	Всего не распознано
1	1	36450499	36450591	93	93	Инделлы	0,22	8928	0	0	8928	0	0
2	1	109465122	109465200	79	79	Поли-А (5), поли-Ц (5), инделлы	0,38	7584	0	0	7584	0	0
3	1	218353867	218353957	91	91	Инделлы	0,4	8736	0	0	8736	0	0
4	1	223906657	223906748	92	92	Инделлы	0,49	8832	0	0	8832	0	0
5	1	228526602	228526682	81	81	Поли-Г (5)	0,69	7776	0	0	7776	0	0
6	1	236372039	236372108	70	70	Поли-Т (10), инделлы	0,39	6720	0	0	6720	0	0
7	1	247812041	247812128	88	88	Поли-А (5), ЦГ (3), ТАА (3), инделлы	0,27	8448	0	0	8448	0	0
8	2	55862774	55862863	90	90	Инделлы	0,28	8640	0	0	8640	0	0
9	2	87003930	87004009	80	80	Инделлы	0,38	7680	0	0	7680	0	0
10	2	177016721	177016805	85	81	Н/П	0,65	7775	1	0	7775	1	0
11	2	186625727	186625801	75	75	Поли-А (8)	0,35	7200	0	0	7200	0	0
12	2	190323504	190323591	88	88	Поли-Т (5)	0,42	8448	0	0	8448	0	0
13	2	200796740	200796826	87	87	Поли-Т (5), инделлы	0,31	8352	0	0	8352	0	0
14	2	212245049	212245139	91	91	Поли-Т (5), поли-А (6), инделлы	0,3	8736	0	0	8736	0	0
15	2	228147052	228147144	93	93	Н/П	0,43	8928	0	0	8928	0	0
16	2	235016350	235016422	73	73	Поли-Т (5), инделлы	0,42	7008	0	0	7008	0	0
17	3	4466229	4466321	93	93	АТ (3), инделлы	0,27	8761	0	167	8760	0	168
18	3	46620561	46620643	83	83	Н/П	0,43	7968	0	0	7968	0	0
19	3	49851331	49851400	70	70	ЦГ (3), инделлы	0,49	6720	0	0	6720	0	0
20	3	189713161	189713248	88	88	Поли-А (5), поли-Т (5), поли-А (9), ТГ (3)	0,41	8448	0	0	8448	0	0
21	3	190106030	190106104	75	74	Инделлы	0,57	7096	0	8	7096	0	8
22	4	2233667	2233744	78	78	Поли-А (6)	0,26	7488	0	0	7488	0	0
23	4	7780541	7780637	97	97	Поли-Г (6), поли-Т (5), поли-А (5)	0,42	9312	0	0	9312	0	0
24	4	15688604	15688681	78	78	Н/П	0,29	7488	0	0	7488	0	0
25	4	56236521	56236586	66	62	Поли-А (5), инделлы	0,36	5952	0	0	5952	0	0

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03

29

Амплико н	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализирован ного фрагмента	Нуклеоти дов в ампликоне в геноме	Содержание в ампликоне в геноме	GC-состав	MiSeqDx 1			MiSeqDx 2		
								Всего распознано корректно	Всего распознано некорректно	Всего не распознано	Всего распознано корректно	Всего распознано некорректно	Всего не распознано
26	4	102839244	102839314	71	69	Поли-А (5)	0,46	6624	0	0	6624	0	0
27	4	164446743	164446804	62	62	Поли-А (7), индел	0,27	5952	0	0	5952	0	0
28	5	1882081	1882158	78	75	Н/П	0,78	7200	0	0	7200	0	0
29	5	14769061	14769144	84	84	ГТ (3), ЦЦА (3)	0,62	8064	0	0	8064	0	0
30	5	41069808	41069871	64	64	Н/П	0,39	6144	0	0	6144	0	0
31	5	74077114	74077196	83	83	Поли-А (6), индел	0,3	7968	0	0	7968	0	0
32	5	147475343	147475409	67	67	Поли-Т (5)	0,37	6432	0	0	6432	0	0
33	5	149323731	149323821	91	91	ЦТ (4), АГ (3)	0,55	8736	0	0	8736	0	0
34	5	155662213	155662287	75	75	Индел	0,43	7200	0	0	7200	0	0
35	6	6318713	6318814	102	102	Поли-Г (6)	0,68	9792	0	0	9792	0	0
36	6	24949983	24950074	92	92	Индел	0,63	8832	0	0	8832	0	0
37	6	31084900	31084999	100	94	ГЦТ (5), индел	0,61	8979	0	45	8979	0	45
38	6	32147987	32148084	98	98	Поли-Т (5), ТЦТ (3), ЦТТ (3)	0,55	9408	0	0	9408	0	0
39	6	32986864	32986958	95	95	Индел	0,53	9120	0	0	9120	0	0
40	6	33408498	33408583	86	86	Поли-Ц (6)	0,7	8256	0	0	8256	0	0
41	6	41647401	41647495	95	94	Поли-Г (5), индел	0,61	9024	0	0	9024	0	0
42	6	112435865	112435955	91	91	Поли-А (5)	0,44	8736	0	0	8736	0	0
43	7	22202076	22202148	73	73	Н/П	0,44	7008	0	0	7008	0	0
44	7	66276100	66276187	88	88	Индел	0,35	8448	0	0	8448	0	0
45	7	77365735	77365821	87	87	Поли-А (7), АГ (4)	0,26	8352	0	0	8352	0	0
46	7	110939946	110940030	85	85	Индел	0,38	8160	0	0	8160	0	0
47	7	128533468	128533557	90	90	Поли-Г (5), индел	0,62	8550	0	90	8550	0	90
48	7	149503875	149503965	91	91	Поли-Г (6), поли- Ц (6), индел	0,71	8736	0	0	8736	0	0
49	7	154404519	154404599	81	66	Н/П	0,31	6336	0	0	6336	0	0
50	7	156476507	156476599	93	93	Индел	0,35	8928	0	0	8928	0	0
51	8	1817312	1817394	83	83	Н/П	0,42	7968	0	0	7968	0	0
52	8	24811020	24811109	90	89	Поли-Г (7), ЦТЦ (4), индел	0,61	8452	0	92	8449	0	95
53	8	76518625	76518691	67	67	Индел	0,3	6432	0	0	6432	0	0
54	9	103054909	103055006	98	98	Поли-Г (6)	0,67	9408	0	0	9408	0	0
55	9	105586150	105586214	65	65	Индел	0,32	6240	0	0	6240	0	0
56	9	107620823	107620918	96	96	Н/П	0,49	9216	0	0	9216	0	0

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03

30

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в достоверных областях	Содержание ампликона в геноме	GC-состав	MiSeqDx 1			MiSeqDx 2		
								Всего распознано корректно	Всего распознано некорректно	Всего не распознано	Всего распознано корректно	Всего распознано некорректно	Всего не распознано
57	9	123769149	123769231	83	83	АТ (3)	0,37	7968	0	0	7968	0	0
58	9	138995345	138995441	97	97	Поли-Ц (6), инделы	0,68	9312	0	0	9312	0	0
59	10	5987120	5987198	79	78	Поли-Г (5), инделы	0,47	7488	0	0	7488	0	0
60	10	11784629	11784726	98	91	ГЦ (3)	0,87	8644	1	91	8644	1	91
61	10	27317777	27317855	79	79	Поли-Т (5)	0,3	7584	0	0	7584	0	0
62	10	33018351	33018440	90	90	Поли-А (5), поли-Т (5)	0,2	8640	0	0	8640	0	0
63	10	45084159	45084253	95	95	Инделы	0,35	9120	0	0	9120	0	0
64	10	55892599	55892687	89	88	АЦ (11), инделы	0,42	8408	0	40	8407	0	41
65	10	101611250	101611329	80	80	Н/П	0,49	7680	0	0	7680	0	0
66	10	118351373	118351453	81	81	Н/П	0,51	7776	0	0	7776	0	0
67	11	8159816	8159912	97	96	Н/П	0,45	9216	0	0	9216	0	0
68	11	30177648	30177717	70	70	Инделы	0,46	6720	0	0	6720	0	0
69	11	47470345	47470444	100	100	Н/П	0,65	9600	0	0	9600	0	0
70	11	59837679	59837740	62	62	Инделы	0,37	5952	0	0	5952	0	0
71	11	64418856	64418957	102	102	Н/П	0,59	9792	0	0	9792	0	0
72	11	93529612	93529684	73	73	Поли-А (5)	0,4	7008	0	0	7008	0	0
73	11	101347052	101347136	85	85	Н/П	0,42	8160	0	0	8160	0	0
74	11	102477336	102477426	91	91	Поли-Г (6)	0,55	8736	0	0	8736	0	0
75	11	118406285	118406369	85	85	Инделы	0,53	8160	0	0	8160	0	0
76	11	120357801	120357885	85	85	Поли-А (5), ЦА (3), инделы	0,34	8160	0	0	8160	0	0
77	11	125769313	125769397	85	85	ГА (3)	0,52	8160	0	0	8160	0	0
78	12	2834770	2834853	84	84	Поли-Ц (5), инделы	0,52	8064	0	0	8064	0	0
79	12	26811004	26811096	93	93	Поли-А (7), АЦ (4)	0,33	8928	0	0	8928	0	0
80	12	30881766	30881846	81	81	Н/П	0,49	7776	0	0	7776	0	0
81	12	88474105	88474175	71	71	Поли-А (6)	0,35	6816	0	0	6816	0	0
82	12	120966872	120966966	95	95	Поли-Г (5)	0,68	9117	3	0	9119	1	0
83	13	24167504	24167576	73	73	Н/П	0,52	7008	0	0	7008	0	0
84	13	25816961	25817049	89	88	Поли-А (5), поли-Т (7), поли-А (7), инделы	0,22	8448	0	0	8448	0	0
85	13	44880112	44880200	89	89	Инделы	0,49	8544	0	0	8544	0	0
86	13	77665218	77665294	77	77	Инделы	0,39	7392	0	0	7392	0	0
87	14	31619327	31619393	67	67	ГА (3), ТА (3)	0,39	6432	0	0	6432	0	0

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов достоверных областей	Содержание в ампликоне в геноме	GC-состав	MiSeqDx 1			MiSeqDx 2		
								Всего распознано корректно	Всего распознано некорректно	Всего не распознано	Всего распознано корректно	Всего распознано некорректно	Всего не распознано
88	14	39517884	39517966	83	83	Н/П	0,25	7968	0	0	7968	0	0
89	14	46958962	46959034	73	72	Поли-Т (5), инделы	0,19	6830	0	82	6835	0	77
90	14	58050030	58050110	81	81	Инделы	0,38	7776	0	0	7776	0	0
91	14	82390559	82390649	91	91	Инделы	0,35	8736	0	0	8736	0	0
92	14	92549544	92549609	66	66	Поли-А (5)	0,41	6336	0	0	6336	0	0
93	14	102808496	102808589	94	94	Инделы	0,62	9024	0	0	9024	0	0
94	15	43170751	43170848	98	96	Поли-Ц (5)	0,45	9216	0	0	9216	0	0
95	15	63446149	63446216	68	68	Инделы	0,25	6528	0	0	6528	0	0
96	15	77879807	77879901	95	93	Поли-Г (5), инделы	0,68	8928	0	0	8926	2	0
97	15	81625334	81625428	95	95	Поли-Т (6)	0,43	9120	0	0	9120	0	0
98	15	85438263	85438334	72	71	Инделы	0,65	6816	0	0	6816	0	0
99	15	89817413	89817503	91	91	Н/П	0,36	8736	0	0	8736	0	0
100	15	89864274	89864343	70	70	Инделы	0,56	6720	0	0	6720	0	0
101	16	1894910	1894972	63	63	Н/П	0,27	6048	0	0	6048	0	0
102	16	28997904	28997998	95	95	Поли-Ц (5)	0,67	9120	0	0	9120	0	0
103	16	53682908	53682994	87	87	ГА (3)	0,41	8352	0	0	8352	0	0
104	16	57954406	57954509	104	104	Поли-Ц (5)	0,67	9984	0	0	9984	0	0
105	16	85706375	85706465	91	91	Поли-Т (5), инделы	0,37	8736	0	0	8736	0	0
106	17	3563920	3564008	89	89	ГЦ (3)	0,64	8544	0	0	8544	0	0
107	17	3594191	3594277	87	87	Поли-Ц (5), инделы	0,67	8347	0	5	8347	0	5
108	17	3970090	3970180	91	91	Инделы	0,46	8736	0	0	8736	0	0
109	17	16084945	16085037	93	93	Инделы	0,26	8928	0	0	8928	0	0
110	17	33998759	33998849	91	89	Поли-Т (5)	0,54	8544	0	0	8544	0	0
111	17	39589691	39589774	84	82	Поли-А (13), инделы (x2)	0,29	7776	7	89	7777	12	83
112	17	41244394	41244484	91	91	Поли-А (5)	0,34	8736	0	0	8736	0	0
113	17	45438866	45438957	92	92	Поли-А (7), АТ (3), АТ (4), АТ (4), инделы	0,26	8832	0	0	8832	0	0
114	17	61502432	61502510	79	79	Инделы	0,41	7546	0	38	7547	0	37
115	17	64023582	64023667	86	86	Поли-Т (7)	0,22	8256	0	0	8256	0	0
116	17	72308237	72308320	84	84	ГАГ (3)	0,62	8064	0	0	8064	0	0
117	18	2616456	2616522	67	67	ГА (3)	0,31	6432	0	0	6432	0	0
118	18	6980478	6980568	91	91	Н/П	0,37	8736	0	0	8736	0	0

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов достоверных областях	Содержание ампликона в геноме	GC-состав	MiSeqDx 1			MiSeqDx 2		
								Всего распознано корректно	Всего распознано некорректно	Всего не распознано	Всего распознано корректно	Всего распознано некорректно	Всего не распознано
119	18	9888026	9888094	69	69	Поли-А (6), ТГ (3)	0,43	6624	0	0	6624	0	0
120	18	38836999	38837073	75	75	Поли-А (5), инделы	0,37	7200	0	0	7200	0	0
121	18	47405382	47405462	81	81	ЦТЦ (3), инделы	0,47	7776	0	0	7776	0	0
122	18	54815665	54815749	85	85	ЦТ (3), инделы	0,45	8160	0	0	8160	0	0
123	18	59773996	59774060	65	65	Н/П	0,48	6240	0	0	6240	0	0
124	19	625143	625241	99	99	Н/П	0,59	9504	0	0	9504	0	0
125	19	18121418	18121491	74	74	Н/П	0,68	7102	2	0	7104	0	0
126	19	18186574	18186643	70	70	Н/П	0,64	6718	2	0	6718	2	0
127	20	746056	746149	94	94	Н/П	0,61	9024	0	0	9024	0	0
128	20	10633195	10633276	82	82	АЦ (3)	0,59	7872	0	0	7872	0	0
129	20	17705633	17705708	76	76	ЦТ (3)	0,58	7296	0	0	7296	0	0
130	20	21766821	21766890	70	70	ГТ (3), ТГ (4), инделы	0,46	6720	0	0	6720	0	0
131	20	25278421	25278521	101	101	Инделы	0,63	9696	0	0	9696	0	0
132	20	50897302	50897368	67	67	Инделы	0,36	6432	0	0	6432	0	0
133	20	62331904	62331994	91	88	Поли-Г (6)	0,73	8360	0	88	8360	0	88
134	20	62690860	62690946	87	87	Инделы	0,57	8352	0	0	8352	0	0
135	21	30300823	30300888	66	66	Инделы	0,35	6336	0	0	6336	0	0
136	21	33694176	33694273	98	98	Поли-Т (6), ЦА (3)	0,54	9408	0	0	9408	0	0
137	21	36710706	36710792	87	87	ГТ (3), инделы	0,39	8352	0	0	8352	0	0
138	21	46644924	46644992	69	69	Поли-А (6), АГ (3), инделы	0,32	6603	0	21	6601	0	23
139	21	46705575	46705664	90	90	Поли-Т (5), поли-А (6)	0,5	8640	0	0	8640	0	0
140	22	25750774	25750873	100	100	Инделы	0,63	9600	0	0	9600	0	0
141	22	32439233	32439329	97	97	Н/П	0,68	9312	0	0	9312	0	0
142	22	37409844	37409940	97	97	Инделы	0,46	9312	0	0	9312	0	0
143	22	37637596	37637694	99	99	Н/П	0,6	9504	0	0	9504	0	0
144	22	47081347	47081438	92	92	Инделы	0,66	8832	0	0	8832	0	0
145	X	15870424	15870492	69	69	Поли-Т (5)	0,26	6624	0	0	6624	0	0
146	X	135288543	135288611	69	69	Поли-Ц (5)	0,62	6624	0	0	6624	0	0
147	X	135290777	135290847	71	71	Н/П	0,52	6816	0	0	6816	0	0
148	Y	2655397	2655461	65	0	Н/П	0,55	0	0	0	0	0	0
149	Y	2655519	2655609	91	0	Н/П	0,48	0	0	0	0	0	0
150	Y	2655609	2655679	71	0	Поли-А (5)	0,37	0	0	0	0	0	0

Результаты исследования воспроизводимости были проанализированы по операторам с использованием частоты вариантов (таблица 7). Этот анализ показал, что частота вариантов была одинакова у обоих операторов. Получили средние значения частоты вариантов ± 1 стандартное отклонение.

Таблица 7 Результаты по операторам для инструмента MiSeqDx

Диапазон частоты вариантов	Кол-во уникальных вариантов	Итого проанализированных вариантов оператором 1	Итого проанализированных вариантов оператором 2	Среднее значение (SD) частоты полученное оператором 1	Среднее значение (SD) частоты полученное оператором 2
Гомозигота (0,70-1,00)	2424	2424	2422	0,94 $\pm$ 0,07	0,96 $\pm$ 0,05
Гетерозигота (0,20-0,70)	8240	8132	8128	0,48 $\pm$ 0,04	0,49 $\pm$ 0,04

Результаты исследования воспроизводимости для каждого образца представлены объединенно по восьми сериям анализов (таблица 8). Детектирование оценено отдельно для каждого типа варианта – ОНВ, вставки и делеции. Исключены референсные позиции. Этот анализ показал, что результаты по вариантам были воспроизводимы по образцам.

Таблица 8 Соответствие результатов распознавания нуклеотидов для инструмента MiSeqDx по образцам

Образец	ОНВ				Инсерции				Делеции			
	Итого	Итого ИП	Итого ЛП	Итого ЛО	Итого	Итого ИП	Итого ЛП	Итого ЛО	Итого	Итого ИП	Итого ЛП	Итого ЛО
NA12877	592	592	0	0	336	336	0	0	288	288	0	0
NA12878	1456	1456	0	0	320	304	0	0	384	368	0	0
NA12879	912	912	0	0	336	320	0	2	288	288	0	0
NA12880	1072	1071	0	1	384	384	0	0	320	304	0	0
NA12881	1248	1247	0	1	384	368	0	0	368	368	0	0
NA12882	944	943	0	1	352	336	0	4	304	288	0	0
NA12883	1088	1087	0	1	368	368	0	0	352	335	0	1
NA12884	1088	1088	0	0	400	384	0	5	336	336	0	0
NA12885	1200	1189	0	7	400	382	0	4	352	336	0	0
NA12886	1104	1102	0	2	368	352	0	3	368	368	0	0
NA12888	1056	1054	0	2	368	368	0	0	304	304	0	0
NA12893	1168	1168	0	0	352	336	0	1	368	368	0	0

Данные, полученные в 8 сериях исследования воспроизводимости, демонстрируют стабильность работы генетического секвенатора MiSeqDx:

- GC-состав $\geq 19\%$ (все распознанные нуклеотиды в 192 из 192 секвенированных ампликонов с GC-составом 19% распознаны корректно, количество нераспознанных составило 1,1%)
- GC-состав $\leq 78\%$ (все распознанные нуклеотиды в 192 из 192 секвенированных ампликонов с GC-составом 78% распознаны корректно, нераспознанные отсутствовали)
- Поли-А последовательности с длиной ≤ 8 (поли-А повторения 8 нуклеотидов были распознаны корректно в 192 из 192 секвенированных ампликонах, содержащих поли-А = 8)
- Поли-Т последовательности с длиной ≤ 10 (поли-Т повторения 10 нуклеотидов были распознаны корректно в 192 и 192 секвенированных ампликонах, содержащих поли-Т = 10)
- Поли-G последовательности с длиной ≤ 7 (поли-G повторения 7 нуклеотидов были распознаны корректно в 192 из 192 секвенированных ампликонах, содержащих поли-G = 7)
- Поли-C последовательности с длиной ≤ 6 (поли-C повторения 6 нуклеотидов были распознаны корректно в 576 из 576 секвенированных ампликонах, содержащих поли-C = 6)

- Динуклеотидные повторения с длиной $\leq 11x$ (все распознанные нуклеотиды в 192 из 192 секвенированных ампликонах с 11х динуклеотидным повторением были распознаны корректно, количество нераспознанных составило 0,5%)
- Тринуклеотидные повторения с длиной $\leq 5x$ (все распознанные нуклеотиды в 192 из 192 секвенированных ампликонах с 5х тринуклеотидным повторением были распознаны корректно, количество нераспознанных составило 0,5%)
- Инсерции 24 или менее оснований и делеции 25 или менее оснований
 - 24-нуклеотидные инсерции были распознаны корректно в 192 из 192 образцов
 - 25-нуклеотидные делеции были распознаны корректно в 223 образцах, не распознано у 1 из 224 образцов

Исследование 2

Исследование воспроизводимости в разных центрах, выполненное с использованием репрезентативной панели MiSeqDx Муковисцидоз вариант анализа -139, включало клинически значимые генетические варианты *CFTR*, проанализированные с помощью программного обеспечения MiSeq Reporter с использованием целевого протокола секвенирования ДНК MiSeqDx (Таблица 9). Слепое исследование проводилось в трех исследовательских центрах, с участием двух операторов в каждом центре. Две хорошо исследованные панели из 46 образцов были протестированы каждым из операторов во всех центрах; в общей сложности было проведено 810 тестов в каждом из исследовательских центров. Данные панели содержали смесь геномной ДНК из клеточных линий с известными вариантами в гене *CFTR*, и крови со сниженным количеством лейкоцитов, известным количеством клеток и известными вариантами в гене *CFTR*. Образцы крови были использованы для оценки всей процедуры, в том числе и оценки этапа экстракции гДНК, который является также основной частью процедуры проведения исследования. Частота прохождения выборки, определяется как число образцов, проходящих критерии контроля качества с первой попытки, составила 99,88%. Все результаты исследования основаны на первичном анализе.

Таблица 9 Сводные результаты исследования воспроизводимости, выполненного с использованием репрезентативной панели MiSeqDx Муковисцидоз вариант анализа -139

Панель	№ образца	Генотип образца	Варианты	Общее количество тестов, проведенных в каждом исследовательском центре	Совпадающие положительные распознавания (Варианты)			Совпадающие отрицательные распознавания (Дикий тип)			Количество неверно распознанных	Количество нераспознанных	Воспроизводимость положительных распознаваний (%)	Воспроизводимость отрицательных распознаваний (%)	Общее совпадение (%)
					Исследовательский центр 1	Исследовательский центр 2	Исследовательский центр 3	Исследовательский центр 1	Исследовательский центр 2	Исследовательский центр 3					
A	1	S549N (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	2	1812-1 G>A (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	3	Q493X/F508del (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	41	F508del/2184delA (HET)		810	12	12	12	797	798	798	0	11	100	100	100
A	52	Y122X/R1158X (HET)		810	12	10	12	798	665	798	0	1352	94,44	94,44	94,44
A	6	F508del/2183AA>G (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	7	R75X (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	8	I507del/F508del (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	93	F508del/W1282X (HET)		810	12	11	12	798	797	798	23	0	97,22	99,96	99,92
A	103	F508del/3272-26A>G (HET)		810	12	11	12	798	797	798	23	0	97,22	99,96	99,92
A	11	F508del/3849+10kbC>T (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	12	621+1G>T/3120+1G>A (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	13	E60X/F508del (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	14	M1101K (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100

Панель	№ образца	Генотип образца	Варианты	Общее количество тестов, проведенных в каждом исследовательском центре	Совпадающие положительные распознавания (Варианты)			Совпадающие отрицательные распознавания (Дикий тип)			Количество неверно распознанных	Количество нераспознанных	Воспроизводимость положительных распознаваний (%)	Воспроизводимость отрицательных распознаваний (%)	Общее совпадение (%)
					Исследовательский центр 1	Исследовательский центр 2	Исследовательский центр 3	Исследовательский центр 1	Исследовательский центр 2	Исследовательский центр 3					
A	15	M1101K (HOM)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	16	F508del (HOM)	I506V, I507V, F508C отсутствует	828	6	6	6	822	822	822	0	0	100	100	100
A	17	F508del/3659delC (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	18	R117H/F508del (HET)	(TG)10 (T)9/ (TG)12 (T)5	816	18	18	18	798	798	798	0	0	100	100	100
A	19	621+1G>T/711+1G>T (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	20	G85E/621+1G>T (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	21	A455E/F508del (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	22	F508del/R560T (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	23	F508del/Y1092X (HET) (C>A)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	24	N1303K (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	25	G542X (HOM)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	26	G542X (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	27	G551D/R553X (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	28	3849+10kbC>T (HOM)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	29	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
A	30	F508del (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	31	1717-1G>A (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	32	R1162X (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	33	R347P/G551D (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	34	R334W (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	35	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
A	36	G85E (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	37	I336K (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	38	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
A	39	F508del/3849+10kbC>T (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	40	621+1G>T/3120+1G>A (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100

Панель	№ образца	Генотип исследуемого образца	Варианты	Общее количество тестов, проведенных в каждом исследователском центре	Совпадающие положительные распознавания (Варианты)			Совпадающие отрицательные распознавания (Дикий тип)			Количество неверно распознанных	Количество нераспознанных	Воспроизводимость положительных распознаваний (%)	Воспроизводимость отрицательных распознаваний (%)	Общее совпадение (%)
					Исследователский центр 1	Исследователский центр 2	Исследователский центр 3	Исследователский центр 1	Исследователский центр 2	Исследователский центр 3					
A	41	F508del/3659delC (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	42	R117H/F508del (HET)	(TG)10 (T)9/ (TG)12 (T)5	816	18	18	18	798	798	798	0	0	100	100	100
A	43	G85E/621+1G>T (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	44	A455E/F508del (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
A	45	N1303K (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
A	46	G551D/R553X (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	47	2789+5G>A (HOM)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	48	CFTR dele2, 3/F508del (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	49	F508del/1898+1G>A (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	50	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
B	51	F508del/2143delT (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	52	3876delA (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	53	3905insT (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	54	394delTT (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	55	F508del (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	56	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
B	57	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
B	58	F508del (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	59	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
B	60	L206W (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	61	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
B	62	G330X (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	63	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
B	64	R347H (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	65	1078delT (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	66	G178R/F508del (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	67	S549R (c.1647T>G) (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	68	S549N (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	69	W846X (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	70	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
B	71	E92X/F508del (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100

Панель	№ образца	Генотип исследуемого образца	Варианты	Общее количество тестов, проведенных в каждом исследовательском центре	Совпадающие положительные распознавания (Варианты)			Совпадающие отрицательные распознавания (Дикий тип)			Количество неверно распознанных	Количество нераспознанных	Воспроизводимость положительных распознаваний (%)	Воспроизводимость отрицательных распознаваний (%)	Общее совпадение (%)
					Исследовательский центр 1	Исследовательский центр 2	Исследовательский центр 3	Исследовательский центр 1	Исследовательский центр 2	Исследовательский центр 3					
B	724	621+1G>T/1154insTC (HET)		810	12	12	12	798	798	797	0	14	100	99,96	99,96
B	73	G542X (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	74	F508del (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	752	F508del (HET)		810	6	5	6	804	670	804	0	1352	94,44	94,44	94,44
B	76	F508del (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	77	621+1G>T/A455E (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	78	1812-1 G>A (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	79	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
B	80	F508del/R553X (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	81	F508del/G551D (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	82	R347P/F508del (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	83	R117H/F508del (HET)	(TG)10 (T)9/ (TG)12 (T)5	816	18	18	18	798	798	798	0	0	100	100	100
B	84	I507del (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	85	2789+5G>A (HOM)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	864	CFTR dele2, 3/F508del (HET)		810	12	12	12	798	797	798	0	14	100	99,96	99,96
B	87	F508del/1898+1G>A (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	88	WT		810	0	0	0	810	810	810	0	0	Н/П	100	100
B	89	F508del/2143delT (HET)		810	12	12	12	798	798	798	0	0	100	100	100
B	90	3905insT (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	91	394delTT (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
B	92	F508del (HET)		810	6	6	6	804	804	804	0	0	100	100	100
Всего				74556	2209			221182			4	273	99,77	99,88	99,88

¹ Локализация дикого типа, соответствующая варианту N1303K для одной повторности, привела к отсутствию определения из-за недостаточного покрытия.

² Одна повторность образцов 5 и 75 имела частоту распознавания 0%. Дальнейшие исследования показывают, что испытуемые образцы не могли быть добавлены в плашку до приготовления библиотеки, потому что объемы образцов, оставшиеся в пробирках, указывают на то, что никакой объем не был оттуда изъят.

³ Факты свидетельствуют о том, что образцы 9 и 10, вероятно, были поменаны оператором до приготовления библиотеки.

⁴ Локализация дикого типа, соответствующая варианту M1V для одной повторности каждого из двух исследуемых образцов, привела к отсутствию распознавания из-за недостаточного покрытия.

Рабочие характеристики для соматических вариантов

В описанных в настоящем документе исследованиях для анализа данных секвенирования использовали модуль «Соматические варианты» за исключением того, что в исследованиях с использованием панели двух генов, где использовали модуль, специфичный для данной тест-системы.

Точность

Для оценки результатов, получаемых с помощью генетического секвенатора MiSeqDx, было проведено три исследования ДНК, экстрагированной из образцов FFPE.

Исследование 1

В этом исследовании была использована репрезентативная тест-система для оценки различных генов, включающих 12 588 оснований, в 23 различных хромосомах с использованием 150 ампликонов. Y-хромосома не содержит достоверно определяемых областей, поэтому ее оценку не проводили. В этом исследовании использовали пять уникальных испытуемых образцов от одной семьи — двух родителей и трех детей, секвенируемых в нескольких лабораториях и с использованием различных методологий секвенирования. Три испытуемых образца получено от женщин и два — от мужчин. Перед выделением ДНК все образцы фиксировали в формалине и иммобилизовали в парафине. Испытуемый образец GM12877 разводили на уровне ДНК образцом GM12878 для создания GM12877-D, чтобы получить набор вариантов с частотами около 5% и 10%. Каждый испытуемый образец исследовали в двух повторностях за исключением GM12877-D, который исследовали в пяти повторностях. Точность определяли для ОНВ, инсерций и делеций путем сравнения данных исследования с хорошо охарактеризованной референсной базой данных. Референсная база данных последовательностей (Platinum Genomes, версия 2016-01) была сформирована на основании результатов, полученных при помощи комбинирования нескольких методологий секвенирования, опубликованных данных и наследственной информации. Если не указано иное, достоверные области генома были определены данным референсным методом. В общей сложности было выполнено восемь прогонов испытуемых образцов, таблицы результатов по определению точности, включают данные первого прогона.

Таблица 10 содержит данные исследования, в которых представлен процент положительного и отрицательного соответствия по каждому испытуемому образцу, где для расчета PPA результаты определения вариантов сравнивают с результатами, полученными хорошо охарактеризованным референсным методом. Три типа вариантов — ОНВ, инсерции и делеции, — объединены. Для расчетов NPA, поскольку с помощью референсного метода получают только результаты для однонуклеотидных вариантов и инсерций/делеций, результаты отсутствия вариантов оснований сравнивают с референсной последовательностью генома человека hg19.

Таблица 10 Соответствие результатов распознавания нуклеотидов для генетического секвенатора MiSeqDx и эталонные данные для 6 хорошо охарактеризованных образцов

Испытуемый образец	Средняя частота определения	Всего вариантов	Всего вариантов TP	Всего вариантов FN	Общее количество TN определений	PPA	NPA	OPA
GM12877	98,7	152	147	0	23719	100	100	100
GM12878	98,4	270	260	0	23482	100	100	100
GM12879	98,7	192	186	0	23744	100	100	100
GM12885	99,1	244	236	0	23713	100	100	100
GM12886	98,7	230	226	0	23652	100	100	100
GM12877-D ¹	98,4	675	650	0	57608	100	100	100
GM12877-D ²		155	155	0		100	100	100

¹ Варианты с частотой более 20%.

² Варианты с частотой менее 20%.

Для покрытия различных геномных последовательностей было разработано 150 ампликонов. GC-состав в ампликонах находился в диапазоне 26-87%. Ампликоны также содержали ряд однонуклеотидных (например, поли-А, поли-Т), динуклеотидных и тринуклеотидных повторов. В анализе было использовано 6 испытуемых образцов уникальных последовательностей. Данные для каждого ампликона представлены в таблице 11 для определения влияния состава на % правильных определений. % правильных определений состоит из количества определения вариантов и стандарта и составляет меньше 100% даже при наличии неправильного или отсутствия определения. Неопределенные варианты встречаются, если определение варианта не проходит через один или более фильтров (например, в случае недостаточного покрытия). Неправильные определения отсутствовали. Количество отсутствующих определений значительно различались по ампликонам. GC-состав и несколько взаимодействий с GC-составом были наиболее значимыми факторами, predisposing к отсутствию определения. 2040/2580 (79%) отсутствия определения были из-за несоответствия спецификации покрытия. Ампликоны с GC-составом более 78% приводили в основном к отсутствию определений. В ампликоне с GC-составом 78% определения отсутствовали в 675 случаях. В ампликоне с GC-составом 87% определения отсутствовали в 1365 случаях. Покрытие может быть увеличено за счет уменьшения количества образцов, загружаемых в проточную ячейку, что позволяет обнаруживать ампликоны с высоким GC-составом.

Таблица 11 Точность данных на уровне ампликона

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в достоверных областях	Содержание ампликона в геноме	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего определено	% верных определений
1	1	36450499	36450591	93	93	Инделлы	0,22	1395	0	0	100
2	1	109465122	109465200	79	79	Поли-А (5), поли-С (5), инделлы	0,38	1185	0	0	100
3	1	218353867	218353957	91	91	Инделлы	0,4	1364	0	1	99,9
4	1	223906657	223906748	92	92	Инделлы	0,49	1380	0	0	100
5	1	228526602	228526682	81	81	Поли-G(5)	0,69	1215	0	0	100
6	1	236372039	236372108	70	70	Поли-Т (10), инделлы	0,39	1050	0	0	100
7	1	247812041	247812128	88	88	Поли-А (5), СТ (3), ТАА (3), инделлы	0,27	1320	0	0	100
8	2	55862774	55862863	90	90	Инделлы	0,28	1350	0	0	100
9	2	87003930	87004009	80	80	Инделлы	0,38	1200	0	0	100
10	2	177016721	177016805	85	81	Н/П	0,65	1215	0	0	100
11	2	186625727	186625801	75	75	Поли-А (8)	0,35	1117	0	10	99,1
12	2	190323504	190323591	88	88	Поли-Т (5)	0,42	1320	0	0	100
13	2	200796740	200796826	87	87	Поли-Т (5), инделлы	0,31	1302	0	8	99,4
14	2	212245049	212245139	91	91	Поли-Т (5), поли-А (6), инделлы	0,3	1365	0	0	100
15	2	228147052	228147144	93	93	Н/П	0,43	1395	0	0	100

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03 | 46

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в достоверных областях	Содержание ампликона в геноме	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего определено	% верных определений
16	2	235016350	235016422	73	73	Поли-Т (5), инделы	0,42	1095	0	0	100
17	3	4466229	4466321	93	93	АТ (3), инделы	0,27	1349	0	46	96,7
18	3	46620561	46620643	83	83	Н/П	0,43	1245	0	0	100
19	3	49851331	49851400	70	70	СТ (3), инделы	0,49	1050	0	0	100
20	3	189713161	189713248	88	88	Поли-А (5), поли-Т (5), поли-А (9), TG (3)	0,41	1305	0	30	97,8
21	3	190106030	190106104	75	74	Инделы	0,57	1108	0	2	99,8
22	4	2233667	2233744	78	78	Поли-А (6)	0,26	1170	0	0	100
23	4	7780541	7780637	97	97	Поли-Г (6), поли-Т (5), поли-А (5)	0,42	1455	0	0	100
24	4	15688604	15688681	78	78	Н/П	0,29	1169	0	1	99,9
25	4	56236521	56236586	66	62	Поли-А (5), инделы	0,36	930	0	0	100
26	4	102839244	102839314	71	69	Поли-А (5)	0,46	1035	0	0	100
27	4	164446743	164446804	62	62	Поли-А (7), инделы	0,27	920	0	10	98,9
28	5	1882081	1882158	78	75	Н/П	0,78	450	0	675	40,0
29	5	14769061	14769144	84	84	ГТ (3), ССА (3)	0,62	1260	0	0	100
30	5	41069808	41069871	64	64	Н/П	0,39	960	0	0	100
31	5	74077114	74077196	83	83	Поли-А (6), инделы	0,3	1245	0	0	100
32	5	147475343	147475409	67	67	Поли-Т (5)	0,37	1005	0	0	100
33	5	149323731	149323821	91	91	СТ (4), АГ (3)	0,55	1365	0	0	100
34	5	155662213	155662287	75	75	Инделы	0,43	1125	0	0	100
35	6	6318713	6318814	102	102	Поли-Г (6)	0,68	1530	0	0	100
36	6	24949983	24950074	92	92	Инделы	0,63	1380	0	0	100
37	6	31084900	31084999	100	94	ГСТ (5), инделы	0,61	1383	0	27	98,1
38	6	32147987	32148084	98	98	Поли-Т (5), ТСТ (3), СТТ (3)	0,55	1455	0	15	99,0
39	6	32986864	32986958	95	95	Инделы	0,53	1425	0	0	100
40	6	33408498	33408583	86	86	Поли-С (6)	0,7	1290	0	0	100
41	6	41647401	41647495	95	94	Поли-Г (5), инделы	0,61	1410	0	0	100
42	6	112435865	112435955	91	91	Поли-А (5)	0,44	1365	0	0	100
43	7	22202076	22202148	73	73	Н/П	0,44	1095	0	0	100
44	7	66276100	66276187	88	88	Инделы	0,35	1320	0	0	100
45	7	77365735	77365821	87	87	Поли-А (7), АГ	0,26	1299	0	6	99,5

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03

47

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в достоверных областях	Содержание ампликона в геноме (4)	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего определено	не % верных определений
46	7	110939946	110940030	85	85	Индел	0,38	1275	0	0	100
47	7	128533468	128533557	90	90	Поли-G (5), индел	0,62	1350	0	0	100
48	7	149503875	149503965	91	91	Поли-G (6), поли-C (6), индел	0,71	1365	0	0	100
49	7	154404519	154404599	81	66	Н/П	0,31	990	0	0	100
50	7	156476507	156476599	93	93	Индел	0,35	1395	0	0	100
51	8	1817312	1817394	83	83	Н/П	0,42	1245	0	0	100
52	8	24811020	24811109	90	89	Поли-G (7), CTC (4), индел	0,61	1305	0	30	97,8
53	8	76518625	76518691	67	67	Индел	0,3	1005	0	0	100
54	9	103054909	103055006	98	98	Поли-G (6)	0,67	1470	0	0	100
55	9	105586150	105586214	65	65	Индел	0,32	973	0	2	99,8
56	9	107620823	107620918	96	96	Н/П	0,49	1440	0	0	100
57	9	123769149	123769231	83	83	АТ (3)	0,37	1242	0	3	99,8
58	9	138995345	138995441	97	97	Поли-C (6), индел	0,68	1455	0	0	100
59	10	5987120	5987198	79	78	Поли-G (5), индел	0,47	1170	0	0	100
60	10	11784629	11784726	98	91	GC (3)	0,87	0	0	1365	0
61	10	27317777	27317855	79	79	Поли-T (5)	0,3	1185	0	0	100
62	10	33018351	33018440	90	90	Поли-A (5), поли-T (5)	0,2	1350	0	0	100
63	10	45084159	45084253	95	95	Индел	0,35	1425	0	0	100
64	10	55892599	55892687	89	88	АС (11), индел	0,42	1290	0	69	94,9
65	10	101611250	101611329	80	80	Н/П	0,49	1200	0	0	100
66	10	118351373	118351453	81	81	Н/П	0,51	1215	0	0	100
67	11	8159816	8159912	97	96	Н/П	0,45	1440	0	0	100
68	11	30177648	30177717	70	70	Индел	0,46	1050	0	0	100
69	11	47470345	47470444	100	100	Н/П	0,65	1500	0	0	100
70	11	59837679	59837740	62	62	Индел	0,37	930	0	0	100
71	11	64418856	64418957	102	102	Н/П	0,59	1530	0	0	100
72	11	93529612	93529684	73	73	Поли-A (5)	0,4	1095	0	0	100
73	11	101347052	101347136	85	85	Н/П	0,42	1275	0	0	100
74	11	102477336	102477426	91	91	Поли-G (6)	0,55	1365	0	0	100
75	11	118406285	118406369	85	85	Индел	0,53	1275	0	0	100
76	11	120357801	120357885	85	85	Поли-A (5), СА (3), индел	0,34	1275	0	0	100

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03

48

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в достоверных областях	Содержание ампликона в геноме	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего определено	% верных определений
77	11	125769313	125769397	85	85	GA (3)	0,52	1275	0	0	100
78	12	2834770	2834853	84	84	Поли-С (5), инделы	0,52	1260	0	14	98,9
79	12	26811004	26811096	93	93	Поли-А (7), AC (4)	0,33	1395	0	0	100
80	12	30881766	30881846	81	81	Н/П	0,49	1215	0	0	100
81	12	88474105	88474175	71	71	Поли-А (6)	0,35	1065	0	0	100
82	12	120966872	120966966	95	95	Поли-G (5)	0,68	1425	0	0	100
83	12	24167504	24167576	73	73	Н/П	0,52	1095	0	0	100
84	13	25816961	25817049	89	88	Поли-А (5), поли-Т (7), поли-А (7), инделы	0,22	1305	0	15	98,9
85	13	44880112	44880200	89	89	Инделы	0,49	1335	0	0	100
86	13	77665218	77665294	77	77	Инделы	0,39	1155	0	0	100
87	14	31619327	31619393	67	67	GA (3), TA (3)	0,39	1005	0	0	100
88	14	39517884	39517966	83	83	Н/П	0,25	1245	0	0	100
89	14	46958962	46959034	73	72	Поли-Т (5), инделы	0,19	1038	0	42	96,1
90	14	58050030	58050110	81	81	Инделы	0,38	1215	0	0	100
91	14	82390559	82390649	91	91	Инделы	0,35	1365	0	0	100
92	14	92549544	92549609	66	66	Поли-А (5)	0,41	975	0	60	94,2
93	14	102808496	102808589	94	94	Инделы	0,62	1410	0	0	100
94	15	43170751	43170848	98	96	Поли-С (5)	0,45	1440	0	0	100
95	15	63446149	63446216	68	68	Инделы	0,25	1020	0	0	100
96	15	77879807	77879901	95	93	Поли-G (5), инделы	0,68	1395	0	0	100
97	15	81625334	81625428	95	95	Поли-Т (6)	0,43	1425	0	0	100
98	15	85438263	85438334	72	71	Инделы	0,65	1065	0	0	100
99	15	89817413	89817503	91	91	Н/П	0,36	1365	0	0	100
100	15	89864274	89864343	70	70	Инделы	0,56	1050	0	0	100
101	16	1894910	1894972	63	63	Н/П	0,27	945	0	0	100
102	16	28997904	28997998	95	95	Поли-С (5)	0,67	1425	0	0	100
103	16	53682908	53682994	87	87	ТА (3)	0,41	1305	0	0	100
104	16	57954406	57954509	104	104	Поли-С (5)	0,67	1560	0	0	100
105	16	85706375	85706465	91	91	Поли-Т (5), инделы	0,37	1362	0	3	99,8
106	17	3563920	3564008	89	89	GC (3)	0,64	1335	0	0	100
107	17	3594191	3594277	87	87	Поли-С (5), инделы	0,67	1303	0	2	99,8

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в достоверных областях	Содержание ампликона в геноме	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего определено	% верных определений
108	17	3970090	3970180	91	91	Индел	0,46	1365	0	0	100
109	17	16084945	16085037	93	93	Индел	0,26	1395	0	0	100
110	17	33998759	33998849	91	89	Поли-Т (5)	0,54	1335	0	0	100
111	17	39589691	39589774	84	82	Поли-А (13), индел (x2)	0,29	1215	0	78	94,0
112	17	41244394	41244484	91	91	Поли-А (5)	0,34	1365	0	0	100
113	17	45438866	45438957	92	92	Поли-А (7), АТ (3), АТ (4), АТ (4), индел	0,26	1365	0	15	98,9
114	17	61502432	61502510	79	79	Индел	0,41	1175	0	10	99,2
115	17	64023582	64023667	86	86	Поли-Т (7)	0,22	1289	0	1	99,9
116	17	72308237	72308320	84	84	GAG (3)	0,62	1260	0	0	100
117	18	2616456	2616522	67	67	GA (3)	0,31	1005	0	0	100
118	18	6980478	6980568	91	91	Н/П	0,37	1365	0	0	100
119	18	9888026	9888094	69	69	Поли-А (6), TG (3)	0,43	1035	0	0	100
120	18	38836999	38837073	75	75	Поли-А (5), индел	0,37	1121	0	19	98,3
121	18	47405382	47405462	81	81	СТС (3), индел	0,47	1215	0	0	100
122	18	54815665	54815749	85	85	СТ (3), индел	0,45	1275	0	0	100
123	18	59773996	59774060	65	65	Н/П	0,48	975	0	0	100
124	19	625143	625241	99	99	Н/П	0,59	1478	0	7	99,5
125	19	18121418	18121491	74	74	Н/П	0,68	1110	0	0	100
126	19	18186574	18186643	70	70	Н/П	0,64	1050	0	0	100
127	20	746056	746149	94	94	Н/П	0,61	1410	0	0	100
128	20	10633195	10633276	82	82	АС (3)	0,59	1230	0	0	100
129	20	17705633	17705708	76	76	СТ (3)	0,58	1140	0	0	100
130	20	21766821	21766890	70	70	GT (3), TG (4), индел	0,46	1050	0	0	100
131	20	25278421	25278521	101	101	Индел	0,63	1515	0	0	100
132	20	50897302	50897368	67	67	Индел	0,36	1005	0	6	99,4
133	20	62331904	62331994	91	88	Поли-G (6)	0,73	1320	0	0	100
134	20	62690860	62690946	87	87	Индел	0,57	1305	0	0	100
135	21	30300823	30300888	66	66	Индел	0,35	990	0	0	100
136	21	33694176	33694273	98	98	Поли-Т (6), СА (3)	0,54	1470	0	0	100
137	21	36710706	36710792	87	87	GT (3), индел	0,39	1305	0	0	100
138	21	46644924	46644992	69	69	Поли-А (6), AG (3), индел	0,32	1029	0	7	99,3
139	21	46705575	46705664	90	90	Поли-Т (5),	0,5	1350	0	0	100

Ампликон	Хромосома	Начало ампликона	Конец ампликона	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в достоверных областях	Содержание ампликона в геноме	GC-состав	Всего верных определений	Всего неверных определений	Всего не определено	% верных определений
						поли-А (6)					
140	22	25750774	25750873	100	100	Индел	0,63	1500	0	1	99,9
141	22	32439233	32439329	97	97	Н/П	0,68	1455	0	0	100
142	22	37409844	37409940	97	97	Индел	0,46	1455	0	0	100
143	22	37637596	37637694	99	99	Н/П	0,6	1485	0	0	100
144	22	47081347	47081438	92	92	Индел	0,66	1380	0	0	100
145	X	15870424	15870492	69	69	Поли-Т (5)	0,26	1035	0	0	100
146	X	135288543	135288611	69	69	Поли-С (5)	0,62	1035	0	0	100
147	X	135290777	135290847	71	71	Н/П	0,52	1065	0	0	100
148	Y	2655397	2655461	65	0	Н/П	0,55	0	0	0	Н/П
149	Y	2655519	2655609	91	0	Н/П	0,48	0	0	0	Н/П
150	Y	2655609	2655679	71	0	Поли-А (5)	0,37	0	0	0	Н/П

Варианты, которые не были определены, сведены в таблице 12. В таблице представлены фильтры, которые привели к отсутствию определения.

Таблица 12 Сводные данные о вариантах, которые не были определены

Ампликон	Хромосома: положение	Вариант	Содержание соответствующего ампликона	Фильтр	Пропущенные варианты	Ожидаемые варианты
28	5:1882129	T > G	78% GC	LowDP ¹	13	
52	8:24811064	AG > A	Поли-G (7), CTC (4), 61% GC	R3x6 ²	15	15
60	10:11784633	C > T	Поли-GC (3), 87% GC	LowDP	13	13
64	10:55892600	TAC > T	AC (11), 42% GC	R3x6	9	9
111	17:39589692	C > CA	Поли-A (13), 29% GC	R3x6	13	13

¹ LowDP: низкое покрытие. Вариант отфильтровывается, если глубина по крайней мере в одном из пулов в этой конкретной позиции ниже 900.

² R3x6: фильтр повторов. Вариант отфильтровывается, если вся последовательность варианта или ее участок повторяется в примыкающем к варианту положении в референсном образце генома. Для этого требуется по меньшей мере шесть повторов в стандартном геноме, и учитываются только повторы длиной вплоть до 3 п. о.

Результаты секвенирования для образца сравнивали с генотипом NA12878 высокой степени достоверности, установленным Национальным институтом стандартов и технологий (NIST) (v.2.19). В последовательности NIST из 150 ампликонов 92 ампликона полностью располагались внутри областей генома высокой степени достоверности, 41 ампликон частично перекрывался, и 17 ампликонов не перекрывались. В результате было получено 10 000 координат на одну повторность для сравнения. Распознанные неизменные азотистые основания сравнивали с референсной последовательностью генома человека hg19. Результаты определения точности приведены в таблице 13.

Таблица 13 Соответствие результатов определения оснований с помощью генетического секвенатора MiSeqDx для образца GM12878 по сравнению с базой данных NIST

Испытуемый образец	Кол-во ампликонов	Средняя частота определения	Всего TP вариантов	Всего FN вариантов	Общее количество TN определений	Общее количество FP определений	PPA	NPA	OPA
GM12878	150	98,43	206	0	19231	0	100	100	100

Был проведен дополнительный анализ пяти неразведенных образцов для определения небольших инделов (инсерции или делеции) (таблица 14). В некоторых случаях инсерция или делеция была общей для двух или более испытуемых образцов, что отражено в столбце «Общее количество повторностей образцов с инсерцией или делецией». В таблицу 14 включены результаты для обеих повторностей пяти достоверных образцов. Общее содержание инсерций или делеций составляло 71 в диапазоне 1-24 п. о. по размеру для инсерций и 1-25 п. о. для делеций. Каждая из 68 инсерций или делеций была определена при проценте соответствия положительного результата 1%. Три инсерции и делеции ни в одном случае не были определены верно, поскольку каждый из этих вариантов не был определен из-за фильтра R3x6; поэтому было невозможно рассчитать PPA с исключением отсутствующих определений. Три варианта включали: делецию 1 п. о. (chr8 24811064 AG>A); делецию 2 п.о. (chr10 55892600 TAC>T) и инсерцию 1 п.о. (chr17 39589692 C>CA).

Таблица 14 Сводные данные определения инсерций или делеций с помощью генетического секвенатора MiSeqDx

Ампликон	Хромосома	Положение	Размер проанализированного фрагмента	Тип и длина инделов в ампликоне	Индел	Общее количество повторностей образцов с инсерцией или делецией	Всего не определено	Всего неверных определений инсерций или делеций	Всего верных определений инсерций или делеций	PPA
1	1	36450544	93	делеция 25 п. о.	GAAAATTTAATGAAACACATTGTCCT>G	7	0	0	7	100
2	1	109465165	79	делеция 3 п. о.	ACTT>A	9	0	0	9	100
3	1	218353908	91	делеция 23 п. о.	T>TTTTAATAGCAAAAAGAGGCTAGA	15	0	0	15	100
4	1	223906701	92	делеция 17 п. о.	GACAGACTGTGAGGAAGA>G	11	0	0	11	100
6	1	236372081	70	инсерция 5 п. о.	C>CTTAAG	9	0	0	9	100
7	1	247812083	88	инсерция 3 п. о.	C>CATG	9	0	0	9	100
8	2	55862804	90	инсерция 7 п. о.	T>TTTGGTAA	13	0	0	13	100
9	2	87003972	80	делеция 6 п. о.	TTATCTC>T	11	0	0	11	100
13	2	200796749	87	инсерция 5 п. о.	T>TTAAAA	15	0	0	15	100
14	2	212245090	91	инсерция 12 п. о.	C>CTGAAAATAGGAT	11	0	0	11	100
16	2	235016388	73	инсерция 2 п. о.	A>ATG	9	0	0	9	100
17	3	4466274	93	делеция 23 п. о.	TAACCTTAAAATTACAAAATAACCC>T	13	0	0	13	100
19	3	49851375	70	инсерция 9 п. о.	C>CCTGGCTCCT	7	0	0	7	100
21	3	190106071	75	делеция 1 п. о.	AG>A	13	0	0	13	100
25	4	56236567	66	делеция 8 п. о.	TAACCGAAA>T	9	0	0	9	100
27	4	164446785	62	инсерция 11 п. о.	T>TTATGGTATTGA	9	0	0	9	100

Ампликон	Хромосома	Положение	Размер проанализированного фрагмента	Тип и длина инделов в ампликоне	Индел	Общее количество повторностей образцов с инсерцией или делецией	Всего не определено	Всего неверных определений инсерций или делеций	Всего верных определений инсерций или делеций	PPA
31	5	74077155	83	делеция 4 п. о.	TAGTA>T	7	0	0	7	100
34	5	155662255	75	инсерция 8 п. о.	G>GCCTACTGA	13	0	0	13	100
36	6	24950035	92	делеция 21 п. о.	CCCTGGGTGCTATAGCCCACCA>C	11	0	0	11	100
37	6	31084942	100	делеция 3 п. о.	GCTT>G	15	0	0	15	100
39	6	32986905	95	делеция 25 п. о.	CTTTCACCTTCCCGTCTCATGCAAAG>C	7	0	0	7	100
41	6	41647442	95	делеция 23 п. о.	GGCATGAGGCTTGGTGACATGGCA>G	11	0	0	11	100
44	7	66276142	88	инсерция 1 п. о.	C>CT	13	0	0	13	100
46	7	110939983	85	делеция 4 п. о.	CAAGT>C	13	0	0	13	100
47	7	128533514	90	инсерция 1 п. о.	T>TC	15	0	0	15	100
48	7	149503916	91	делеция 4 п. о.	GGATA>G	7	0	0	7	100
50	7	156476548	93	делеция 11 п. о.	GAATCTGCACTT>G	13	0	0	13	100
52	8	24811064	90	делеция 1 п. о.	AG>A	15	15	0	0	Н/П
53	8	76518677	67	инсерция 4 п. о.	T>TACTG	9	0	0	9	100
55	9	105586193	65	инсерция 4 п. о.	C>CAATT	13	0	0	13	100
58	9	138995370	97	делеция 21 п. о.	TCTGGGGGGCAGCCCCTGAGGG>T	9	0	0	9	100
59	10	5987158	79	делеция 3 п. о.	TAAC>T	11	0	0	11	100
63	10	45084202	95	делеция 16 п. о.	AGCGTCTATAACCAAAT>A	11	0	0	11	100
64	10	55892600	89	делеция 2 п. о.	TAC>T	9	9	0	0	100
68	11	30177690	70	инсерция 2 п. о.	C>CTG	7	0	0	7	100
70	11	59837721	62	инсерция 8 п. о.	T>TTATGAAAA	11	0	0	11	100
75	11	118406328	85	делеция 8 п. о.	CAGTGTGGA>C	9	0	0	9	100
76	11	120357842	85	делеция 2 п. о.	CTT>C	11	0	0	11	100
78	12	2834814	84	инсерция 21 п. о.	T>TTCTCAGTACGGTGAACCCAG	15	0	0	15	100
84	13	25817002	89	инсерция 19 п. о.	C>CAAAATATAAAAAGCTCCCT	15	0	0	15	100
85	13	44880152	89	инсерция 4 п. о.	C>CCTGT	11	0	0	11	100
86	13	77665265	77	делеция 20 п. о.	ATCTATTTTCTAATAGACGGC>A	9	0	0	9	100
89	14	46958967	73	делеция 22 п. о.	TTTAAATTTGAATGTGATAAAA>T	15	0	0	15	100
90	14	58050081	81	инсерция 4 п. о.	C>CTGAT	13	0	0	13	100

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03

57

Ампликон	Хромосома	Положение	Размер проанализированного фрагмента	Тип и длина индел в ампликоне	Индел	Общее количество повторностей образцов с инсерцией или делецией	Всего не определено	Всего неверных определений инсерций или делеций	Всего верных определений инсерций или делеций	PPA
				о.						
91	14	82390602	91	делеция 16 п. о.	CTTGCTCTATAAACCGT>C	11	0	0	11	100
93	14	102808554	94	делеция 5 п. о.	CGTGGA>C	9	0	0	9	100
95	15	63446199	68	делеция 6 п. о.	CAAAATT>C	11	0	0	11	100
96	15	77879862	95	делеция 25 п. о.	GCCCCTGAGCCAGCCTCCCGCTCTTA>G	9	0	0	9	100
98	15	85438311	72	инсерция 3 п. о.	C>CTTG	9	0	0	9	100
100	15	89864316	70	инсерция 4 п. о.	G>GCTAC	9	0	0	9	100
105	16	85706416	91	делеция 7 п. о.	ATTATTTT>A	11	0	0	11	100
107	17	3594276	87	делеция 1 п. о.	TG>T	13	0	0	13	100
108	17	3970133	91	инсерция 18 п. о.	A>ATCCTATTCTACTCTGAAT	11	0	0	11	100
109	17	16084985	93	инсерция 4 п. о.	A>AACAC	7	0	0	7	100
111	17	39589692	84	инсерция 1 п. о.	C>CA	13	13	0	0	100
112	17	39589739	84	инсерция 24 п. о.	T>TTCTGAAGGTCAAGTCTATCCCTGA	15	0	0	15	100
113	17	45438886	92	делеция 4 п. о.	CAGTG>C	7	0	0	7	100
114	17	61502459	79	делеция 12 п. о.	TTTGTATCTGCTG>T	13	0	0	13	100
120	18	38837054	75	инсерция 22 п. о.	T>TGTATCTTAGCAAAAGTTTCTCA	15	0	0	15	100
121	18	47405425	81	инсерция 3 п. о.	T>TGAG	11	0	0	11	100
122	18	54815706	85	делеция 2 п. о.	ACT>A	13	0	0	13	100
130	20	21766863	70	делеция 15 п. о.	TACTTGAGAACTGAGG>T	9	0	0	9	100
131	20	25278464	101	инсерция 5 п. о.	A>AGTGGG	13	0	0	13	100
132	20	50897361	67	инсерция 11 п. о.	G>GGAATGTCAGCC	15	0	0	15	100
134	20	62690925	87	делеция 16 п. о.	TCCTGGCTGGCCTGTGG>T	9	0	0	9	100
135	21	30300873	66	инсерция 11 п. о.	G>GATAAACTTTA	9	0	0	9	100
137	21	36710749	87	делеция 21 п. о.	ACTCAAGATAACTCATGTTATC>A	9	0	0	9	100
138	21	46644985	69	делеция 5 п. о.	GTTGTT>G	13	0	0	13	100
140	22	25750814	100	инсерция 6 п. о.	C>CAGGGCA	13	0	0	13	100

Ампликон	Хромосома	Положение	Размер проанализированного фрагмента	Тип и длина индел в ампликоне	Индел	Общее количество повторностей образцов с инсерцией или делецией	Всего не определено	Всего неверных определений инсерций или делеций	Всего верных определений инсерций или делеций	PPA
142	22	37409885	97	инсерция 5 п. о.	C>CTGTTT	13	0	0	13	100
144	22	47081407	92	делеция 10 п. о.	GGGCACAGGCA>G	7	0	0	7	100

Исследование 2

В данном исследовании использовались зафиксированные в формалине и залитые парафином образцы ткани колоректального рака, анализ проводили на панели из 2 генов, результаты которого сравнивались с референсным методом, двунаправленным секвенированием по Сэнгеру (Sanger). Из общего количества 1183 пациентов у 441 пациента результаты анализа по Сэнгеру и репрезентативному анализу были достоверными. При оценке на уровне пациента (таблица 15) 230 из 441 пациента имели положительные результаты по Сэнгеру (мутация обнаружена методом секвенирования по Сэнгеру); из них у 227 результаты по репрезентативному анализу были положительными. Оставшиеся 211 из 441 пациентов имели отрицательный результат при исследовании методом секвенирования по Сэнгеру (мутация не обнаружена); из них у 206 результат по репрезентативному анализу был отрицательным. В результате процент соответствия положительных результатов (ППС) составил 98,7%, а процент соответствия отрицательных результатов (ПОС) - 97,6% (Таблица 15).

Таблица 15 Процент соответствия положительных и отрицательных результатов на уровне пациента

Репрезентативный анализ	Метод Сэнгера		Всего
	Положительный	Отрицательный	
Положительный	227 ¹	5	232
Отрицательный	3 ²	206	209
Всего	230	211	441

Обзор рабочих характеристик

Статистика соответствия	Точка оценки	Точный 95% ДИ
PPA	227/230 = 98,7%	[96,2%, 99,7%]
NPA	206/211 = 97,6%	[94,6%, 99,2%]

¹Было получено 224 точных соответствия для результатов одного пациента на уровне всех мутаций; для 2 пациентов генетический секвенатор MiSeqDx выявил мутацию, обнаруженную по методу Сэнгера, и 1 дополнительную мутацию; у 1 пациента MiSeqDx и метод Сэнгера выявили разные мутации.

²У одного пациента было 2 мутации, обнаруженные методом Сэнгера; у 2 пациентов была одна мутация, обнаруженная методом Сэнгера.

Исследование 3

В этом исследовании оценили ДНК библиотеки, полученные из образцов FFPE нескольких типов тканей. Всего было задействовано 109 образцов FFPE восьми разных типов тканей (толстая кишка, яичники, поджелудочная железа, надпочечники, мочевой пузырь, печень, щитовидная железа и молочная железа), каждый тип ткани был представлен минимум 11 образцами FFPE. Ткань надпочечника содержала метастазы от рака пищевода, легких, прямой кишки; в других тканях были первичные опухоли. Это исследование включало оценку 26 генов, 21 577 нуклеотидов, в 17 различных хромосомах. Всего секвенировали 6 различных генов (*KRAS*, *NRAS*, *TP53*, *PIK3CA*, *EGFR* и *BRAF*) по методу Сэнгера, каждая опухоль имела 1-3 гена, которые секвенировали на основании ожидаемого наличия соматических мутаций, характерных для данной опухоли. Результаты секвенирования по Сэнгеру показали 39 соматических мутаций ОНВ в 33 из 109 образцов FFPE. С помощью генетического секвенатора MiSeqDx идентифицировали 36 соматических мутаций ОНВ в 32 из 109 образцов FFPE с 1 ложно отрицательным и 2 отсутствиями определения позиции варианта. ППС составил 97,3%. С помощью генетического

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03 | 61

секвенатора MiSeqDx идентифицировали 78 975 референсных нуклеотидов в 109 образцах FFPE, 29 по отношению к секвенированию по Сэнгеру были ложно положительными, 2437 не были распознаны. ОПС составил 99,9%. Делеция двух нуклеотидов соответствовала между двумя методами. В таблице 16 приведены результаты по типам тканей.

Таблица 16 Положительный и отрицательный процент соответствия по типам тканей

Тип ткани	Кол-во образцов	Всего вариантов	Всего вариантов ИП	Всего вариантов ЛО	Всего определено ИО	Всего определено ЛП	Всего определено не	ОПС	ПОС
Надпочечники	16	6	4	1	11823	2	607	80	>99,9
Мочевой пузырь	12	4	4	0	7070	3	273	100	>99,9
Молочная железа	16	3	3	0	13439	7	479	100	99,9
Прямая кишка	11	6	5	0	8720	2	133	100	>99,9
Печень	13	3	3	0	7984	1	59	100	>99,9
Яичники	13	7	7	0	10581	1	724	100	>99,99
Поджелудочная железа	17	7	7	0	11929	12	489	100	99,9
Щитовидная железа	11	3	3	0	7429	1	652	100	>99,9
Итого	109	39	36	1	78974	29	3416	97,3	>99,9

Воспроизводимость

Для оценки воспроизводимости результатов для генетического секвенатора MiSeqDx было проведено два исследования с ДНК, экстрагированной из образцов FFPE. В исследовании 1 использовали несколько инструментов; в исследовании 2 были задействованы разные исследовательские центры.

Исследование 1

Воспроизводимость результатов для генетического секвенатора MiSeqDx установили с использованием двух инструментов и двух операторов, всего провели восемь серий анализов. Оценка репрезентативности, геномный состав ампликона, образцы и метод сравнения были теми же, что для исследования точности №1, описанного выше. Результаты, приведенные в пересчете на ампликон для каждого инструмента (таблица 17), они отражают воспроизводимость определений между инструментами. % корректных определений включал как некорректные определения, так и не определенные нуклеотиды (вариант не проходил один или более фильтров). Инструменты имели схожие результаты по количеству отсутствия определения в зависимости от ампликона. Для MiSeqDx 1 было обнаружено только одно некорректное определение по известному региону, определенному референсом сравнения Platinum Genomes. Некорректное определение было ложно положительным определением варианта инсерции в ампликоне 64, относящемся к хромосоме 10 в позициях 55892599 - 55892687; ампликон имел 11 динуклеотидных повторов.

Таблица 17 Результаты исследования воспроизводимости относительно нескольких генетических секвенаторов MiSeqDx (уровень ампликона)

Ампликон	Хромосома	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в подтвержденных регионах	Геномный состав ампликона	GC-состав	M70215		Всего не определено	M70217		Всего не определено
						Всего определено корректно	Всего определено некорректно		Всего определено корректно	Всего определено некорректно	
1	1	93	93	Индел	0,22	5580	0	0	5580	0	0
2	1	79	79	Поли-А (5), поли-С (5), индел	0,38	4740	0	0	4740	0	0
3	1	91	91	Индел	0,4	5448	0	12	5453	0	8
4	1	92	92	Индел	0,49	5518	0	2	5518	0	2
5	1	81	81	Поли-Г (5)	0,69	4858	0	2	4860	0	0
6	1	70	70	Поли-Т (10), индел	0,39	4200	0	0	4200	0	0
7	1	88	88	Поли-А (5), СТ (3), ТАА (3), индел	0,27	5279	0	1	5279	0	1
8	2	90	90	Индел	0,28	5400	0	0	5400	0	0
9	2	80	80	Индел	0,38	4800	0	0	4800	0	0
10	2	85	81	Н/П	0,65	4859	0	1	4859	0	1
11	2	75	75	Поли-А (8)	0,35	4468	0	40	4468	0	40
12	2	88	88	Поли-Т (5)	0,42	5280	0	0	5280	0	0
13	2	87	87	Поли-Т (5), индел	0,31	5211	0	43	5214	0	40
14	2	91	91	Поли-Т (5), поли-А (6), индел	0,3	5453	0	7	5449	0	11
15	2	93	93	Н/П	0,43	5579	0	1	5579	0	1
16	2	73	73	Поли-Т (5), индел	0,42	4378	0	2	4379	0	1
17	3	93	93	АТ (3), индел	0,27	5396	0	184	5396	0	184
18	3	83	83	Н/П	0,43	4980	0	0	4980	0	0
19	3	70	70	СТ (3), индел	0,49	4193	0	7	4194	0	6
20	3	88	88	Поли-А (5), поли-Т (5), поли-А (9), TG (3)	0,41	5220	0	120	5220	0	120
21	3	75	74	Индел	0,57	4432	0	8	4432	0	8
22	4	78	78	Поли-А (6)	0,26	4676	0	4	4676	0	4
23	4	97	97	Поли-Г (6), поли-Т (5), поли-А (5)	0,42	5820	0	0	5820	0	0
24	4	78	78	Н/П	0,29	4679	0	1	4677	0	3
25	4	66	62	Поли-А (5), индел	0,36	3720	0	0	3720	0	0
26	4	71	69	Поли-А (5)	0,46	4140	0	0	4140	0	0
27	4	62	62	Поли-А (7), индел	0,27	3676	0	45	3671	0	51

Ампликон	Хромосома	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в подтвержденных регионах	Геномный состав ампликона	GC-состав	M70215			M70217		
						Всего определено корректно	Всего определено некорректно	Всего не определено	Всего определено корректно	Всего определено некорректно	Всего не определено
28	5	78	75	Н/П	0,78	3368	0	1132	3485	0	1015
29	5	84	84	GT (3), CCA (3)	0,62	5040	0	0	5040	0	0
30	5	64	64	Н/П	0,39	3840	0	0	3840	0	0
31	5	83	83	Поли-А (6), инделы	0,3	4979	0	1	4980	0	0
32	5	67	67	Поли-Т (5)	0,37	4020	0	0	4020	0	0
33	5	91	91	СТ (4), AG (3)	0,55	5460	0	0	5460	0	0
34	5	75	75	Инделы	0,43	4498	0	6	4500	0	1
35	6	102	102	Поли-G (6)	0,68	6120	0	0	6120	0	0
36	6	92	92	Инделы	0,63	5520	0	0	5520	0	0
37	6	100	94	GCT (5), инделы	0,61	5532	0	108	5532	0	108
38	6	98	98	Поли-Т (5), TCT (3), CTT (3)	0,55	5820	0	60	5820	0	60
39	6	95	95	Инделы	0,53	5697	0	3	5698	0	2
40	6	86	86	Поли-С (6)	0,7	5159	0	1	5160	0	0
41	6	95	94	Поли-G (5), инделы	0,61	5638	0	2	5638	0	2
42	6	91	91	Поли-А (5)	0,44	5460	0	0	5460	0	0
43	7	73	73	Н/П	0,44	4380	0	0	4380	0	0
44	7	88	88	Инделы	0,35	5279	0	1	5276	0	4
45	7	87	87	Поли-А (7), AG (4)	0,26	5184	0	36	5181	0	39
46	7	85	85	Инделы	0,38	5100	0	0	5100	0	0
47	7	90	90	Поли-G (5), инделы	0,62	5398	0	2	5399	0	1
48	7	91	91	Поли-G (6), поли-С (6), инделы	0,71	5460	0	0	5459	0	1
49	7	81	66	Н/П	0,31	3960	0	0	3960	0	0
50	7	93	93	Инделы	0,35	5580	0	0	5579	0	1
51	8	83	83	Н/П	0,42	4980	0	0	4980	0	0
52	8	90	89	Поли-G (7), CTC (4), инделы	0,61	5219	0	121	5220	0	120
53	8	67	67	Инделы	0,3	4020	0	0	4020	0	0
54	9	98	98	Поли-G (6)	0,67	5879	0	1	5880	0	0
55	9	65	65	Инделы	0,32	3894	0	6	3895	0	5
56	9	96	96	Н/П	0,49	5760	0	0	5760	0	0
57	9	83	83	AT (3)	0,37	4973	0	7	4978	0	2
58	9	97	97	Поли-С (6), инделы	0,68	5817	0	3	5818	0	2
59	10	79	78	Поли-G (5), инделы	0,47	4679	0	1	4680	0	0
60	10	98	91	GC (3)	0,87	450	0	5010	632	0	4828
61	10	79	79	Поли-Т (5)	0,3	4740	0	0	4740	0	0

Ампликон	Хромосома	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в подтвержденных регионах	Геномный состав ампликона	GC-состав	M70215			M70217		
						Всего определено корректно	Всего определено некорректно	Всего не определено	Всего определено корректно	Всего определено некорректно	Всего не определено
62	10	90	90	Поли-А (5), поли-Т (5)	0,2	5400	0	0	5400	0	0
63	10	95	95	Индел	0,35	5699	0	1	5699	0	1
64	10	89	88	AC (11), индел	0,42	5157	0	276	5153	2	273
65	10	80	80	Н/П	0,49	4800	0	0	4800	0	0
66	10	81	81	Н/П	0,51	4860	0	0	4860	0	0
67	11	97	96	Н/П	0,45	5760	0	0	5760	0	0
68	11	70	70	Индел	0,46	4199	0	2	4200	0	1
69	11	100	100	Н/П	0,65	5999	0	1	5998	0	2
70	11	62	62	Индел	0,37	3720	0	0	3720	0	0
71	11	102	102	Н/П	0,59	6120	0	0	6118	0	2
72	11	73	73	Поли-А (5)	0,4	4380	0	0	4380	0	0
73	11	85	85	Н/П	0,42	5100	0	0	5100	0	0
74	11	91	91	Поли-G (6)	0,55	5437	0	23	5441	0	19
75	11	85	85	Индел	0,53	5100	0	0	5100	0	0
76	11	85	85	Поли-А (5), CA (3), индел	0,34	5100	0	0	5100	0	0
77	11	85	85	GA (3)	0,52	5100	0	0	5100	0	0
78	12	84	84	Поли-C (5), индел	0,52	5040	0	60	5038	0	63
79	12	93	93	Поли-А (7), AC (4)	0,33	5577	0	3	5573	0	7
80	12	81	81		0,49	4860	0	0	4860	0	0
81	12	71	71	Поли-А (6)	0,35	4260	0	0	4260	0	0
82	12	95	95	Поли-G (5)	0,68	5605	0	95	5605	0	95
83	13	73	73	Н/П	0,52	4380	0	0	4379	0	1
84	13	89	88	Поли-А (5), поли-Т (7), поли-А (7), индел	0,22	5220	0	60	5220	0	60
85	13	89	89	Индел	0,49	5340	0	0	5340	0	0
86	13	77	77	Индел	0,39	4620	0	0	4620	0	0
87	14	67	67	GA (3), TA (3)	0,39	4020	0	0	4020	0	0
88	14	83	83	Н/П	0,25	4980	0	0	4980	0	0
89	14	73	72	Поли-Т (5), индел	0,19	4173	0	147	4173	0	147
90	14	81	81	Индел	0,38	4860	0	2	4860	0	0
91	14	91	91	Индел	0,35	5459	0	1	5460	0	0
92	14	66	66	Поли-А (5)	0,41	3900	0	240	3900	0	240
93	14	94	94	Индел	0,62	5637	0	3	5637	0	3
94	15	98	96	Поли-C (5)	0,45	5760	0	0	5760	0	0
95	15	68	68	Индел	0,25	4079	0	1	4078	0	2

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03

65

Ампликон	Хромосома	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в подтвержденных регионах	Геномный состав ампликона	GC-состав	M70215			M70217		
						Всего определено корректно	Всего определено некорректно	Всего не определено	Всего определено корректно	Всего определено некорректно	Всего не определено
96	15	95	93	Поли-G (5), инделы	0,68	5475	0	105	5487	0	93
97	15	95	95	Поли-T (6)	0,43	5699	0	1	5700	0	0
98	15	72	71	Инделы	0,65	4260	0	0	4260	0	0
99	15	91	91	Н/П	0,36	5460	0	0	5460	0	0
100	15	70	70	Инделы	0,56	4200	0	0	4200	0	0
101	16	63	63	Н/П	0,27	3780	0	0	3780	0	0
102	16	95	95	Поли-C (5)	0,67	5700	0	0	5700	0	0
103	16	87	87	ТА (3)	0,41	5220	0	0	5220	0	0
104	16	104	104	Поли-C (5)	0,67	6238	0	3	6238	0	3
105	16	91	91	Поли-T (5), инделы	0,37	5443	0	17	5444	0	16
106	17	89	89	GC (3)	0,64	5251	0	89	5339	0	1
107	17	87	87	Поли-C (5), инделы	0,67	5212	0	8	5212	0	8
108	17	91	91	Инделы	0,46	5459	0	1	5459	0	1
109	17	93	93	Инделы	0,26	5580	0	0	5580	0	0
110	17	91	89	Поли-T (5)	0,54	5340	0	0	5340	0	0
111	17	84	82	Поли-A (13), индел (x2)	0,29	4860	0	308	4860	0	307
112	17	91	91	Поли-A (5)	0,34	5459	0	1	5459	0	1
113	17	92	92	Поли-A (7), АТ (3), АТ (4), АТ (4), инделы	0,26	5460	0	60	5460	0	60
114	17	79	79	Инделы	0,41	4699	0	41	4700	0	40
115	17	86	86	Поли-T (7)	0,22	5153	0	7	5156	0	4
116	17	84	84	GAG (3)	0,62	5039	0	1	5039	0	1
117	18	67	67	GA (3)	0,31	4020	0	0	4020	0	0
118	18	91	91	Н/П	0,37	5460	0	0	5460	0	0
119	18	69	69	Поли-A (6), TG (3)	0,43	4132	0	8	4131	0	9
120	18	75	75	Поли-A (5), инделы	0,37	4475	0	85	4480	0	79
121	18	81	81	СТС (3), инделы	0,47	4860	0	0	4860	0	0
122	18	85	85	СТ (3), инделы	0,45	5098	0	2	5098	0	2
123	18	65	65	Н/П	0,48	3900	0	0	3900	0	0
124	19	99	99	Н/П	0,59	5926	0	14	5924	0	16
125	19	74	74	Н/П	0,68	4440	0	0	4438	0	2
126	19	70	70	Н/П	0,64	4199	0	1	4200	0	0
127	20	94	94	Н/П	0,61	5640	0	1	5638	0	3
128	20	82	82	АС (3)	0,59	4920	0	0	4920	0	0
129	20	76	76	СТ (3)	0,58	4559	0	1	4558	0	2

Ампликон	Хромосома	Размер проанализированного фрагмента	Нуклеотидов в подтвержденных регионах	Геномный состав ампликона	GC-состав	M70215			M70217		
						Всего определено корректно	Всего определено некорректно	Всего не определено	Всего определено корректно	Всего определено некорректно	Всего не определено
130	20	70	70	GT (3), TG (4), инделы	0,46	4200	0	0	4200	0	0
131	20	101	101	Инделы	0,63	6060	0	0	6060	0	0
132	20	67	67	Инделы	0,36	4020	0	31	4020	0	25
133	20	91	88	Поли-G (6)	0,73	5277	0	3	5274	0	6
134	20	87	87	Инделы	0,57	5218	0	2	5218	0	2
135	21	66	66	Инделы	0,35	3959	0	1	3957	0	3
136	21	98	98	Поли-T (6), CA (3)	0,54	5880	0	0	5880	0	0
137	21	87	87	GT (3), инделы	0,39	5220	0	0	5220	0	0
138	21	69	69	Поли-A (6), AG (3), инделы	0,32	4119	0	31	4113	0	37
139	21	90	90	Поли-T (5), поли-A (6)	0,5	5399	0	1	5399	0	1
140	22	100	100	Инделы	0,63	5998	0	7	5997	0	5
141	22	97	97	Н/П	0,68	5819	0	1	5819	0	1
142	22	97	97	Инделы	0,46	5818	0	2	5816	0	4
143	22	99	99	Н/П	0,6	5940	0	0	5940	0	0
144	22	92	92	Инделы	0,66	5519	0	1	5519	0	1
145	X	69	69	Поли-T (5)	0,26	4139	0	1	4140	0	0
146	X	69	69	Поли-C (5)	0,62	4136	0	4	4137	0	3
147	X	71	71	Н/П	0,52	4260	0	0	4260	0	0
148	Y	65	0	Н/П	0,55	0	0	0	0	0	0
149	Y	91	0	Н/П	0,48	0	0	0	0	0	0
150	Y	71	0	Поли-A (5)	0,37	0	0	0	0	0	0

Результаты исследования воспроизводимости были проанализированы по операторам с использованием частоты вариантов (таблица 18). Этот анализ показал, что частота вариантов была одинакова у обоих операторов. Получили средние значения частоты вариантов ± 1 стандартное отклонение.

Таблица 18 Результаты по операторам для генетического секвенатора MiSeqDx

Диапазон частоты вариантов	Кол-во уникальных вариантов	Итого вариантов, проанализированных оператором 1	Итого вариантов, проанализированных оператором 2	Среднее значение (SD) частоты вариантов, полученное оператором 1	Среднее значение (SD) частоты вариантов, полученное оператором 2
Высокая частота (~100%)	1112	1072	1072	0,96 $\pm$ 0,05	0,96 $\pm$ 0,05
Средняя частота (~50%)	3240	3151	3161	0,49 $\pm$ 0,04	0,49 $\pm$ 0,04
Низкая частота (3-7%)	620	618	612	0,05 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01

Результаты исследования воспроизводимости для каждого образца представлены объединенно по восьми сериям анализов (таблица 19). Определение оценено отдельно для каждого типа варианта – ОНВ, инсерции и делеции. Исключены референсные позиции. Анализ показал, что результаты по вариантам были воспроизводимы по образцам.

Таблица 19 Соответствие результатов определения нуклеотидов для генетического секвенатора MiSeqDx по образцам

Образец	ОНВ				Вставки				Делеции			
	Итого	Итого ИП	Итого ЛП	Итого ЛО	Итого	Итого ИП	Итого ЛП	Итого ЛО	Итого	Итого ИП	Итого ЛП	Итого ЛО
GM12877	592	574	2	0	336	336	0	0	228	272	0	0
GM12878	1456	1432	0	0	320	304	0	0	384	352	0	0
GM12879	912	896	0	0	336	320	0	0	288	272	0	0
GM12885	1200	1192	0	0	400	384	0	0	352	320	0	0
GM12886	1104	1104	0	0	368	352	0	0	368	352	0	0
GM12877-D1 ¹	3640	3582	0	0	800	760	0	0	960	880	0	0
GM12877-D2 ²	400	398	0	0	520	516	0	0	560	556	0	0

¹ Варианты с частотой более 20%.

² Варианты с частотой менее 20%.

Данные, полученные в 8 сериях анализов исследования воспроизводимости, показывают стабильность секвенирования генетического секвенатора MiSeqDx:

- GC-состав $\geq 19\%$ (все определенные нуклеотиды в 120 из 120 секвенированных ампликонов с GC-составом 19% определены корректно, количество не определенных составило 3,4%)
- GC-состав $\leq 73\%$ (все определенные нуклеотиды в 120 из 120 секвенированных ампликонов с GC-составом 73% определены корректно, количество не определенных составило 0,1%)
- Поли-А последовательности с длиной ≤ 8 (поли-А повторения 8 нуклеотидов были определены корректно в 120 из 120 секвенированных ампликонов, содержащих поли-А = 8)
- Поли-Т последовательности с длиной ≤ 10 (поли-Т повторения 10 нуклеотидов были определены корректно в 120 из 120 секвенированных ампликонов, содержащих поли-Т = 10)
- Поли-G последовательности с длиной ≤ 6 (поли-G повторения 6 нуклеотидов были определены корректно в 720 из 720 секвенированных ампликонов, содержащих поли-G = 6)
- Поли-С последовательности с длиной ≤ 6 (поли-С повторения 6 нуклеотидов были определены корректно в 359 из 360 секвенированных ампликонов, содержащих поли-С = 6, 1 не определена)
- Динуклеотидные повторы с длиной $\leq 4x$ (все нуклеотиды определены в 600 из 600 секвенированных ампликонов с 4x динуклеотидным повтором были определены корректно, количество не определенных составило 0,4%)
- Тринуклеотидные повторы с длиной $\leq 5x$ (все нуклеотиды определены в 120 из 120 секвенированных ампликонов с 5x тринуклеотидным повтором были определены корректно, количество не определенных составило 1,9%)
- Инсерции 24 или менее нуклеотидов и делеции 25 или менее нуклеотидов
 - 24-нуклеотидные инсерции были определены корректно в 120 из 120 образцов

Август 2021 г.

Документ № 1000000021963 в.03 | 71

- 25-нуклеотидные делеции были определены корректно в 182 образцах, отсутствие определения отмечено в 2 из 184 образцов

Исследование 2

Для оценки воспроизводимости при анализе панели из 2 генов было проведено второе исследование, условия такие же как и в исследовании 2 по оценке точности. Провели тестирование в 3 разных организациях (по 2 оператора на организацию) в течение 3 непоследовательных дней с использованием реагентов из товарной партии 1. Тестирование было проведено с помощью 6 хорошо охарактеризованных панелей образцов геномной ДНК из FFPE клинических образцов или клеточных линий. Каждая панель состояла из 10 участников, в общем 60 участников.

60 участников панели содержали повторы 4 уникальных образцов диких типов (для панели мутаций), 12 уникальных мутантных образцов (с единичной мутацией), полученных с высоким и низким уровнями частоты мутаций, и 2 уникальных мутантных образца (с единичной мутацией), полученных только с низким уровнем частоты мутаций. Если все результаты были достоверны, каждый уникальный образец для тестирования уровня частоты мутаций (протестированный в двух экземплярах в каждом прогоне) имел 36 возможных результатов (2 повторения $\times$ 2 оператора $\times$ 3 дня $\times$ 3 организации).

Процент ожидаемого определения (PEC от Percent Expected Call) по всем положительным и отрицательным вариантам оценивался путем сравнения репрезентативного результата анализа с ожидаемым результатом мутации (ожидаемая мутация обнаружена или не обнаружена) в каждом образце. PEC рассчитывался как количество ожидаемых определений, разделенное на количество попыток определения, умноженное на 100%. Двусторонний 95% доверительный интервал рассчитывался методом расчета Вилсона.

При объединении результатов, полученных в разных организациях, уровень прохождения образца составлял $\geq 94,7\%$ для первого прогона образца или для образцов, протестированных в прогонах, которые были валидированы при первом прохождении. PEC уровня мутаций во всех образцах составил 99,6% (905/909) (95% ДИ; 98,9, 99,8). Количество попыток определения по всем 56 мутациям панели (независимо от того, ожидалась ли обнаруженная мутация или нет) для всех комплектных образцов составило 58 856 (56×1051). Из этих 58 856 мутаций было только 6 случаев, в которых наблюдаемые и ожидаемые результаты не совпали; PEC на уровне мутаций во всех положительных и отрицательных вариантах у всех панелей мутаций и панелей дикого типа составил 99,99% (58 850/58 856).

Аналитическая чувствительность (предел холостой пробы (LoB) и предел обнаружения (LoD))

Это исследование направлено на верификацию порогового уровня анализа и предел обнаружения (LoD) для генетического секвенатора MiSeqDx с использованием репрезентативной панели. Кратко, хорошо охарактеризованные клеточные линии из Platinum Genome GM12878 и GM12877 были зафиксированы формалином и залиты парафином, затем была выделена ДНК. GM12878 была смешана с GM12877 таким образом, что вариантные частоты семидесяти вариантов мутаций (52 ОНВ, девять инсерций и девять делеций) составляли около 0,05. Два образца ДНК тестировались двумя операторами с использованием двух генетических секвенаторов и двух товарных партий реактивов, что в общем составило 10 прогонов секвенирования на генетическом секвенаторе MiSeqDx. В результате получено 40 повторов для каждого варианта GM12878 и 60 повторов для каждой соответствующей координаты дикого типа GM12877 для каждой партии реагентов. Предел холостой пробы (LoB) и предел обнаружения (LoD) были рассчитаны с использованием классического подхода, изложенного в CLSI EP17-A2, с использованием непараметрической опции. LoB и LoD были рассчитаны для ОНВ, инсерций и делеций отдельно, путем объединения частот вариантов для данного типа варианта. Ошибка типа I была определена как 0,01, а ошибка типа II была определена как 0,05.

Для определения LoB объединенные варианты частоты были отсортированы от наименьшего к наибольшему, и для каждой партии реагентов для каждого типа варианта была рассчитана позиция 99 (Таблица 20). Программное обеспечение генетического секвенатора MiSeqDx использует пороговое значение (эффективное LoB) на уровне 0,026 частоты варианта для определения качественного детектирования вариантов. Рассчитанные LoB подтвердили, что отсечение этих результатов приводит к ошибке типа I не более 0,01.

Таблица 20 Предел холостой пробы (LoB)

Тип варианта	Общее количество частот варианта	LoB товарной партии реагентов 1 (%)	LoB товарной партии реагентов 2 (%)
ОНВ	3120	0,87	0,75
Инсерции	540	0,79	0,60
Делеции	540	0,96	0,84

Для установления LoD было рассчитано процентное содержание частоты индивидуальных мутаций для каждой товарной партии реагентов для каждого типа вариантов при отсечении ниже 0,026 (Таблица 21). Поскольку процентное содержание было меньше, чем ошибка типа II, равная 5% (0,05), медиана объединенных частот вариантов была рассчитана как LoD (Таблица 22). LoD для каждого типа варианта был установлен, как большее из двух значений, рассчитанных для двух товарных партий реагентов - 5,45% для ОНВ, 4,88% для инсерций и 5,44% для делеций.

Таблица 21 Предел обнаружения (LoD)

Товарная партия реактивов	Тип варианта	Общее количество частот варианта	Количество измерений вариантов частоты <2,6 %	%измерений вариантов частоты <2,6 %	Предел обнаружения (%)
1	ОНВ	2080	5	0,20	5,45
	Вставки	360	0	0,00	4,86
	Делеции	360	3	0,80	5,44
2	ОНВ	2080	26	1,30	5,44
	Вставки	360	0	0,00	4,88
	Делеции	360	0	0,00	5,24

Следующие исследования демонстрируют характеристики производительности генетического секвенатора MiSeqDx с использованием другого репрезентативного анализа, направленного на анализ 56 мутаций в двух клинически значимых генах участвующих в

онкогенезе (панель мутаций). Панель мутаций предназначена для специфического выявления 56 мутаций в двух клинически значимых генах, участвующих в онкогенезе (Ген 1 и Ген 2). Анализ одновременно определяет наличие или отсутствие каждой из 56 мутаций в каждом секвенированном образце. Эталонным методом для этих исследований было двунаправленное секвенирование по Сэнгеру.

Прецизионность товарных партий

Для оценки производительности генетического секвенатора MiSeqDx было проведено исследование прецизионности товарных партий (состоящих из реагентов для оценки качества образцов, реагентов для подготовки библиотеки и реагентов для секвенирования) с использованием репрезентативного анализа с 2 генами с использованием панели из 5 смешанных образцов FFPE, соответствующих требованиям к образцу. Каждый FFPE образец содержал 2 уникальные мутации: одна с низким (приблизительно 8%) уровнем частоты и одна с высоким (приблизительно 14%) уровнем частоты. Двенадцать (12) наблюдений каждой из 5 смесей образцов были собраны в течение 3 непоследовательных дней с использованием 3 наборов партий реагентов. Общее количество наблюдений для исследования по всем партиям реагентов составило 180 по всем смесям образцов и 360 наблюдений по всем уровням частоты мутаций. 99,7% наблюдений по всем партиям и дням (359/360) показали ожидаемый результат мутации. Одна низкочастотная мутация была неправильно определена диким типом. Для определения расчетного значения вариативности системы был выполнен дисперсионный анализ компонентов для каждой мутации/уровня частоты мутации. Общее стандартное отклонение варьировалось в диапазоне от 0,011 до 0,029. Общее стандартное отклонение компонентов товарной партии реагентов варьировалось в диапазоне от 0 до 0,015.

История изменений

Документ №	Дата	Описание изменений
Документ № 1000000021963 в. 03	Август 2021 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя ЕС. Добавлена таблица истории изменений.

Патенты и торговые марки

Этот документ и его содержимое защищены правом собственности корпорации Иллюмина (Illumina, Inc.) и ее дочерних компаний («Illumina») и предназначены исключительно для использования по договору с ее заказчиками в связи с использованием приборов, описанных в настоящем документе, и ни для каких других целей. Этот документ и его содержимое не должны использоваться или распространяться для каких-либо других целей и/или иным образом передаваться, раскрываться или воспроизводиться каким-либо образом без предварительного письменного согласия корпорации Иллюмина. Этим документом корпорация Иллюмина не передает права ни на свои патенты, товарные знаки, авторские права или права общего права, ни на аналогичные права каких-либо третьих лиц.

Для обеспечения правильного и безопасного использования прибора (ов), инструкции, изложенные в данном документе, должны строго и четко соблюдаться квалифицированным и должным образом обученным персоналом. Все содержимое этого документа должно быть полностью прочитано и понято до использования данного прибора (ов).

ЧАСТИЧНОЕ ПРОЧТЕНИЕ И НЕВЫПОЛНЕНИЕ ВСЕХ СОДЕРЖАЩИХСЯ ЗДЕСЬ ИНСТРУКЦИЙ МОГУТ ПРИВЕСТИ К ПОВРЕЖДЕНИЮ ПРИБОРА (ОВ), ТРАВМАМ ЛЮДЕЙ, ВКЛЮЧАЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ ИЛИ ДРУГИХ, А ТАКЖЕ К ПОВРЕЖДЕНИЮ ДРУГОГО ИМУЩЕСТВА.

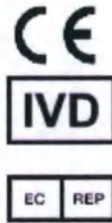
ИЛЛЮМИНА НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА НЕПРАВИЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОПИСАННЫХ ЗДЕСЬ ПРИБОРОВ, (ВКЛЮЧАЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИХ ЧАСТЕЙ ИЛИ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ).

© 2021 Illumina, Inc. Все права защищены.

Illumina, MiSeqDx, TruSeq, тыквенно оранжевый цвет и дизайн потоковых баз принадлежат торговой марке корпорации Иллюмина (Illumina, Inc.) и/или ее филиалу (ам) в США и/или других странах. Все прочие названия, логотипы и другие товарные знаки являются собственностью соответствующих владельцев.

Контактная информация

Иллюмина (Illumina)
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.(США)
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (за пределами Северной
Америки)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherland (Нидерланды)

Австралийский заказчик:
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Australia (Австралия)

Маркировка прибора

Для полной ссылки на символы, которые появляются на упаковке и маркировке прибора, обратитесь к символьному ключу на support.illumina.com на вкладке *Документация и литература* для вашего комплекта.

Справочное руководство прибора генетический секвенатор MiSeqDx для MOS в. 2

[illegible]

ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO

СОБСТВЕННОСТЬ КОМПАНИИ ILLUMINA

Документ № 1000000021961 в. 03

Август 2021 г.

Данный документ и его содержимое являются собственностью компании Illumina, Inc. и ее аффилированных лиц («Illumina»), и предназначены исключительно для использования описанного здесь изделия (изделий) клиентами компании согласно договору. Данный документ и его содержимое не подлежат использованию или распространению для иных целей и/или передаче, раскрытию и воспроизведению каким-либо способом без предварительного письменного разрешения компании Illumina. Данным документом компания Illumina не предоставляет никаких разрешений по своему патенту, торговой марке, правам в рамках общего права или аналогичным правам третьих лиц.

Разрешение на использование ПО предоставляется согласно условиям и положениям лицензионного соглашения ПО секвенирования компании Illumina, указанным в отдельном документе. В случае несогласия с указанными условиями и положениями компания Illumina не может дать вам разрешение на использование ПО, что не позволит вам использовать или устанавливать данное ПО.

Квалифицированный и соответствующим образом обученный персонал должен четко соблюдать все инструкции, указанные в данном документе, чтобы обеспечить надлежащее и безопасное использование описанного здесь изделия (изделий). Перед использованием такого изделия (изделий) необходимо полностью прочитать и разобраться в содержимом данного документа.

НЕПОЛНОЕ ОЗНАКОМЛЕНИЕ И НЕСОБЛЮЖДЕНИЕ ВСЕХ ИМЕЮЩИХСЯ ЗДЕСЬ ИНСТРУКЦИЙ МОЖЕТ ПРИВЕСТИ К ПОВРЕЖДЕНИЮ ИЗДЕЛИЯ (ИЗДЕЛИЙ), ТРАВМИРОВАНИЮ ЛЮДЕЙ, В ТОМ ЧИСЛЕ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ, И ПОВРЕЖДЕНИЮ ПРОЧЕГО ИМУЩЕСТВА.

КОМПАНИЯ ILLUMINA НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ ЗА НЕПРАВИЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОПИСАННОГО ЗДЕСЬ ИЗДЕЛИЯ (ИЗДЕЛИЙ) (ВКЛЮЧАЯ ИХ ЧАСТИ ИЛИ ПРАГМАТНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ) ИЛИ ЗА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТАКОГО ИЗДЕЛИЯ (ИЗДЕЛИЙ) БЕЗ ПРЯМОГО ПИСЬМЕННОГО РАЗРЕШЕНИЯ КОМПАНИИ ILLUMINA КАСАТЕЛЬНО ПРИОБРЕТЕНИЯ КЛИЕНТОМ ТАКОГО ИЗДЕЛИЯ (ИЗДЕЛИЙ).

© 2021 г. Illumina, Inc. Все права защищены.

Все торговые марки являются собственностью компании Illumina, Inc. или соответствующих владельцев. Сведения о конкретной торговой марке см. на www.illumina.com/company/legal.html.

Данное ПО содержит библиотеку SeqAn Library, которая предоставлена компании Illumina и распространяется согласно следующей лицензии:

Авторское право © 2010 г., Knut Reinert, FU Berlin. Все права защищены. Распространение и использование в исходном или двоичном формате с изменениями или без разрешено, при условии выполнения следующих требований:

- 1 Копии исходного кода должны содержать вышеуказанную информацию об авторском праве, данный перечень требований, и следующее ниже заявление об отказе от ответственности.
- 2 Копии в двоичном формате должны воспроизводить вышеуказанную информацию об авторском праве, данный перечень требований, и следующее ниже заявление об отказе от ответственности в документации, и/или других материалах, прилагаемых к копиям.
- 3 Наименования FU Berlin или Knut Reinert и соавторов не должны использоваться в качестве рекомендаций или для рекламы продуктов, полученных на основе данного ПО без отдельного предварительно полученного письменного разрешения.

ДАННОЕ ПО ПРЕДОСТАВЛЯЕТСЯ ДЕРЖАТЕЛЯМИ АВТОРСКИХ ПРАВ И СОАВТОРАМИ В СОСТОЯНИИ «КАК ЕСТЬ» И НЕ ДАЕТ ЯВНЫХ ИЛИ ПОДРАЗУМЕВАЕМЫХ ГАРАНТИЙ, ВКЛЮЧАЯ, НО НЕ ОГРАНИЧИВАЯСЬ, ПОДРАЗУМЕВАЕМЫЕ ГАРАНТИИ ТОВАРНОГО СОСТОЯНИЯ ИЛИ ПРИГОДНОСТИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПО КАКОМУ-ЛИБО КОНКРЕТНОМУ НАЗНАЧЕНИЮ. НИ ПРИ КАКИХ ОБСТОЯТЕЛЬСТВАХ ВЛАДЕЛЬЦЫ АВТОРСКИХ ПРАВ И СОАВТОРЫ НЕ НЕСУТ НИКАКОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА КАКОЙ-ЛИБО ПРЯМОЙ, КОСВЕННЫЙ, СЛУЧАЙНЫЙ, СПЕЦИАЛЬНЫЙ, ШТРАФНОЙ ИЛИ ПОСЛЕДУЮЩИЙ УЩЕРБ, ВКЛЮЧАЯ, НО НЕ ОГРАНИЧИВАЯСЬ, ПОСТАВКИ ЗАМЕНЯЮЩИХ ТОВАРОВ ИЛИ УСЛУГ, НЕВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ, ПОТЕРЮ ДАННЫХ ИЛИ ПРИБЫЛИ, ИЛИ ПРЕРЫВАНИЕ КОММЕРЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ, НЕЗАВИСИМО ОТ ПРИЧИН ИЛИ ПО ЛЮБОМУ ПРИНЦИПУ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЕСЛИ ТАКОВЫЕ УКАЗАНЫ В ДОГОВОРЕ, БЕЗУСЛОВНОМУ ОБЯЗАТЕЛЬСТВУ ИЛИ ПРАВОНАРУШЕНИЮ (ВКЛЮЧАЯ ХАЛАТНОЕ ОТНОШЕНИЕ И ПРОЧЕЕ) В СВЯЗИ С КАКИМ-ЛИБО ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДАННОГО ПО, ДАЖЕ ЕСЛИ БЫЛА ОГОВОРЕНА ВЕРОЯТНОСТЬ ПОДОБНОГО УЩЕРБА.

История изменений

Документ №	Дата	Описание изменений
1000000021961 в. 03	Август 2021 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя ЕС.
1000000021961 в. 02	Декабрь 2019 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя ЕС. Обновлен адрес австралийского спонсора
1000000021961 в. 01	Март 2018 г.	Добавлена информация про службу контроля Illumina Proactive в новом разделе «Установка параметра отправки сведений о состоянии прибора».
1000000021961 в. 00	Ноябрь 2015 г.	Первоначальный выпуск.

[Данная страница намеренно оставлена пустой]

Содержание

История изменений	iii
Содержание	v
Глава 1	Общие сведения..... 1
Компоненты.....	2
ПО MiSeqDx	5
ПО Local Run Manager.....	7
Требуемое место на диске.....	8
Антивирусное ПО	9
Режим исследования	10
Глава 2	Начало работы 11
Запуск генетического секвенатора MiSeqDx	12
Установка параметра мойки после рабочего цикла.....	13
Установка параметра автоматического запуска рабочего цикла.....	14
Установка параметра отправки сведений о состоянии прибора.....	15
Настройка предпочтений электронной почты	16
Указание местонахождения по умолчанию для папки выходных данных.....	17
Необходимые расходные материалы.....	18
Хранение и обращение	18
Глава 3	Секвенирование 19
Введение.....	20
Длительность рабочего процесса	21
Рабочий процесс MiSeqDx	22
Подготовка картриджа с реагентами	23
Регистрация и выполнение подсказок для секвенирования	25
Очищение проточной ячейки	26
Загрузка проточной ячейки	28
Загрузка реагентов	30
Контроль рабочего цикла	32
Выполнение мойки после рабочего цикла.....	34
Глава 4	Процедуры обслуживания 39
Периодичность обслуживания.....	40
Профилактическое обслуживание	41
Выполнение профилактической мойки	42
Мойка перед простоем.....	45
Завершение работы прибора	47
Приложение 1	Поиск и устранение неполадок..... 49
Введение.....	50
Комплектация для поиска и устранения неисправностей	51
Выполнение проверки системы.....	52
Пауза или остановка рабочего цикла.....	53
Подъем трубок картриджа с реагентами вручную	54
Устранение ошибок настройки рабочего цикла	55
Устранение сбоя при считывании радиочастотного идентификатора	56
Предотвращение перезагрузки во время рабочего цикла	58
Устранение ошибки расхода.....	59

Выполнение теста проверки объема	60
Устранение ошибок, связанных с температурой в охладителе реагентов	62
Устранение ошибок анализа в Local Run Manager	63
Настройка параметров системы.....	64
Приложение 2 Папка выходных данных.....	67
Папки рабочего цикла	68
Предметный указатель	69
Техническая помощь.....	71

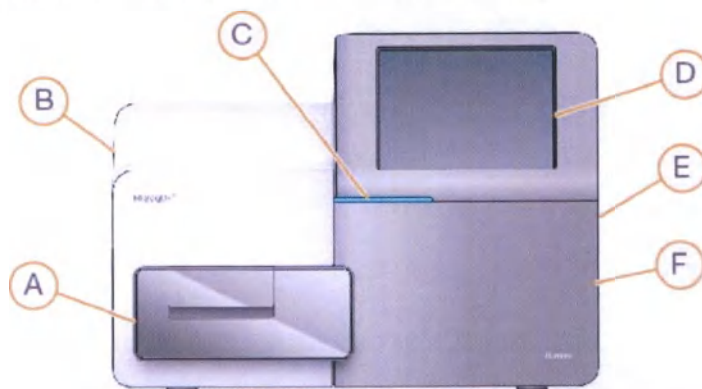
Общие сведения

Компоненты.....	2
ПО MiSeqDx	5
ПО Local Run Manager.....	7
Требуемое место на диске.....	8
Антивирусное ПО	9
Режим исследования	10



Компоненты

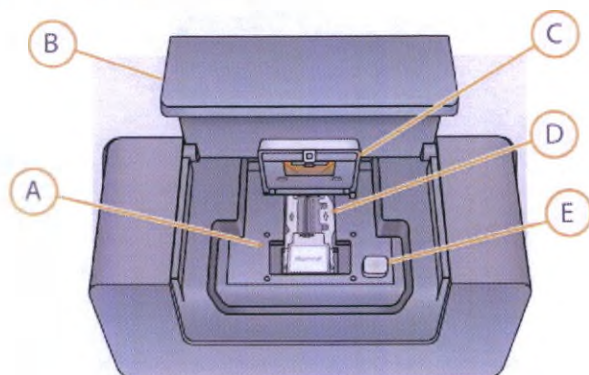
MiSeqDx состоит из следующих внешних компонентов:



- A **Отсек проточной ячейки** — содержит подставку проточной ячейки, на которой она находится в течение всего рабочего цикла. Двигатели подставки проточной ячейки выдвигают подставку из закрытого оптического модуля для загрузки проточной ячейки, а затем возвращают подставку с началом рабочего цикла.
- B **Закрытый оптический модуль** — содержит оптические компоненты, позволяющие получать изображения проточной ячейки.
- C **Индикатор состояния** — использует 3 цвета для индикации состояния прибора. Синий цвет говорит о том, что прибор выполняет обработку, оранжевый — что прибор требует внимания, зеленый — что прибор готов к запуску следующего рабочего цикла.
- D **Монитор с сенсорным экраном** — позволяет выбирать конфигурацию непосредственно на приборе и настраивать рабочий цикл с помощью программного интерфейса.
- E **Внешний порт USB** — служит для упрощения передачи файлов и данных на вычислительное устройство прибора с сенсорного экрана.
- F **Отсек реагентов** — содержит реагенты при необходимой температуре, моющие растворы и сливную емкость. Магнитный затвор фиксирует дверцу отсека реагентов.

Интерфейс генетического секвенатора MiSeqDx направляет пользователей на этапах настройки рабочего цикла с помощью монитора с сенсорным экраном.

Отсек проточной ячейки

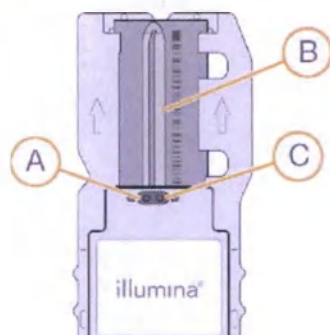


- A Подставка проточной ячейки
- B Дверца отсека проточной ячейки
- C Защелка проточной ячейки
- D Проточная ячейка
- E Кнопка отпущения защелки проточной ячейки

Внутри отсека проточной ячейки находятся подставка проточной ячейки, тепловое устройство и соединения проточной ячейки для жидкостей. Подставка удерживает проточную ячейку, а защелка фиксирует и размещает в определенном положении проточную ячейку. Когда защелка проточной ячейки закрывается, 2 штырька, расположенные возле шарнира защелки, автоматически размещают проточную ячейку.

Тепловое устройство, расположенное под подставкой для проточной ячейки, регулирует изменение температуры проточной ячейки, необходимое для создания кластера и секвенирования.

Проточная ячейка



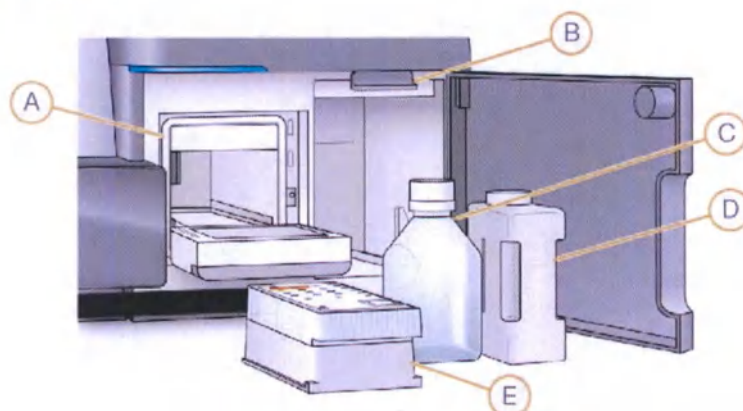
- A Выпускное отверстие
- B Область изображения
- C Впускное отверстие

Проточная ячейка генетического секвенатора MiSeqDx — это одноразовая подложка со стеклянным основанием, на которой создаются кластеры и выполняется реакция секвенирования.

Реагенты поступают в проточную ячейку через впускное отверстие, проходят через однополосную область изображения и выходят через выпускное отверстие. Отходы из проточной ячейки поступают в сливную емкость.

Во время рабочего цикла секвенирования полоса отображается в небольших областях изображения, которые называются плитками.

Отсек реагентов



- A Охладитель реагентов
- B Ручка трубки (показана в поднятом положении)
- C Флакон с буфером SBS (PR2) MiSeqDx
- D Сливная емкость
- E Картридж с реагентами

Отсек реагентов содержит охладитель, а также места для флакона с буфером SBS (PR2) MiSeqDx и сливной емкости.

Во время рабочего цикла охладитель реагентов удерживает одноразовый картридж с реагентами. Во время мойки прибора охладитель реагентов удерживает промывочный лоток. Программа автоматически опускает трубки в каждую емкость картриджа с реагентами в определенное время рабочего цикла, которое зависит от выполняемого процесса.

Справа от охладителя реагентов имеются 2 паза: один по своей форме подходит для флакона с буфером SBS (PR2) MiSeqDx, а другой — для сливной емкости. Ручка трубок фиксирует флакон и емкость и опускает соответствующие трубки в каждую из них.

Реагенты закачиваются через трубки и линии струйной автоматики, после чего попадают в проточную ячейку. В течение всего процесса отходы реагентов отводятся в сливную емкость.

ПО MiSeqDx

Описанное в данном разделе ПО используется для настройки, выполнения и анализа данных от MiSeqDx.

- ▶ **Рабочее ПО MiSeq (MOS)** — управление работой прибора. Интерфейс рабочего ПО MiSeq (MOS) обеспечивает поэтапное подведение к загрузке проточной ячейки и реагентов перед началом рабочего цикла. В ходе выполнения рабочего цикла отображается обзор статистических показателей качества. ПО устанавливается и работает на приборе.
- ▶ Во время рабочего цикла MOS управляет подставкой для проточной ячейки, распределяет реагенты, регулирует температуру проточной ячейки и фиксирует изображения кластеров в проточной ячейке. MOS выполняет рабочий цикл согласно параметрам, указанным в ПО Local Run Manager.
- ▶ **Анализ в реальном времени (RTA)** — это встроенное ПО, которое выполняет анализ изображения, распознает азотистые основания и определяет показатели качества для каждого азотистого основания в каждом цикле. Изображения временно сохраняются в папке рабочего цикла для обработки RTA, а затем автоматически удаляются по завершению анализа RTA.
- ▶ **ПО Local Run Manager** — это используемое в приборе комплексное решение для создания рабочего цикла, мониторинга состояния, анализа данных секвенирования и просмотра результатов. Также ПО Local Run Manager отслеживает информацию об образце и управляет разрешениями пользователя. ПО работает на вычислительном устройстве прибора и его можно просматривать через веб-браузер. См. раздел «ПО Local Run Manager» на стр. 7.
- ▶ Для выполнения дополнительного анализа для рабочих циклов RUO имеется **MiSeq Reporter**.

Индикаторы действий

В нижнем правом углу экрана интерфейса находится ряд пиктограмм. Каждая пиктограмма указывает действие, выполняемое прибором.

Рисунок 1. Индикаторы действий



Индикаторы отображают следующие действия (слева направо):

- ▶ Перемещение подставки по оси Y
- ▶ Перемещение подставки по оси Z
- ▶ Активация функций электроники
- ▶ Использование камеры
- ▶ Прокачивание через системы струйной автоматки

Пиктограммы состояния

В правом верхнем углу главного экрана находится пиктограмма состояния, которая указывает на изменение состояния во время настройки рабочего цикла или во время самого рабочего цикла.

Пиктограмма состояния	Название состояния	Описание
	Нормальное состояние	Без изменений. Система в нормальном состоянии.
	Внимание!	Важная информация. Рекомендуется выполнить действие.
	Предупреждение	Из-за предупреждений рабочий цикл не останавливается. Но перед его продолжением необходимо выполнить определенные действия.
	Ошибка	При возникновении ошибки обычно рабочий цикл останавливается, а перед его продолжением необходимо выполнить определенные действия.

При изменении состояния появляется соответствующая пиктограмма, которая мигает и привлекает внимание. В таком случае необходимо выбрать пиктограмму для открытия окна состояния, в котором содержится общее описание состояния.

- Выберите любой из указанных пунктов, чтобы просмотреть подробное описание состояния и инструкции по его устранению, если это применимо.
- Нажмите **Acknowledge** (подтвердить) для принятия сообщения и **Close** (закрыть) для закрытия диалогового окна.

Можно применить фильтры к сообщениям в окне состояния, выбрав пиктограммы вдоль верхнего края окна. При выборе пиктограммы состояние отображается или скрывается.

Индикаторы датчиков

В основании экрана интерфейса есть три индикатора датчиков, которые указывают состояние компонентов прибора.

Рисунок 2. Индикаторы датчиков



Индикаторы датчиков отображают следующие компоненты (слева направо):

- Закрытое или открытое положение дверцы отсека проточной ячейки
- Температура охладителя реагентов в °C
- Температура проточной ячейки в °C

ПО Local Run Manager

ПО Local Run Manager — это используемое в приборе комплексное решение для создания рабочего цикла, мониторинга состояния, анализа данных и просмотра результатов. Данное ПО объединено с MOS и обрабатывает данные распознавания азотистых оснований, полученных во время первичного анализа. ПО Local Run Manager автоматически проводит вторичный анализ по завершению рабочего цикла секвенирования.

ПО Local Run Manager используется для регистрации информации об образцах во время подготовки библиотеки и обеспечивает отслеживание положительного образца в ходе процесса, выдавая информацию о каждом образце.

Кроме этого, ПО Local Run Manager управляет авторизацией пользователя, предоставляя разрешения для пользователей разного уровня доступа. Разрешения сохраняются в файле базы данных, к которой обращается генетический секвенатор MiSeqDx. Также ПО Local Run Manager может контролировать рабочий цикл секвенирования. Более подробную информацию см. в документе «Программный модуль Local Run Manager. Справочное руководство к генетическому секвенатору MiSeqDx.» (№ 1000000011880).

Секвенирование во время анализа

Вычислительные ресурсы прибора генетический секвенатор MiSeqDx используются для секвенирования или анализа.

Если новый рабочий цикл секвенирования начинается на генетическом секвенаторе MiSeqDx еще до завершения вторичного анализа предыдущего рабочего цикла, появится диалоговое окно подтверждения. После подтверждения начала нового рабочего цикла секвенирования, ПО Local Run Manager приостанавливает вторичный анализ предыдущего рабочего цикла до тех пор, пока не будет выполнен новый рабочий цикл секвенирования.

По завершению нового рабочего цикла секвенирования автоматически запустится (с самого начала) вторичный анализ предыдущего рабочего цикла.

Требуемое место на диске

Объем запоминающего устройства встроенного вычислительного устройства прибора составляет примерно 550 ГБ.

Перед запуском рабочего цикла программа проверяет доступное место на диске. Если места на диске недостаточно для выполнения рабочего цикла, программа выдает сообщение. В нем указывается, сколько места на диске требуется для рабочего цикла и сколько места нужно освободить для его выполнения.

Если необходимо освободить место на диске, соответствующим образом переместите или удалите старые папки рабочих циклов.

Антивирусное ПО

Компания Иллюмина (Illumina) настоятельно рекомендует установить приобретаемое пользователем антивирусное ПО для защиты компьютера от вирусов.

Чтобы антивирусное ПО не мешало работе генетического секвенатора MiSeqDx и не привело к потере данных, необходимо настроить его обновление следующим образом:

- ▶ Установите ручное, а не автоматическое сканирование.
- ▶ Проводите сканирование только тогда, когда прибор не используется.
- ▶ Настройте так, чтобы обновления загружались, но не устанавливались без разрешения пользователя.
- ▶ Отмените автоматическую перезагрузку компьютера после обновления.
- ▶ Исключите диск с данными и каталог приложения из системы защиты файловой системы в реальном времени.

Режим исследования

Используйте команду «Reboot to Research Mode» (перезагрузить в исследовательский режим), чтобы перевести системное ПО в режим исследования (RUO). Для использования данной функции обычному пользователю требуется разрешение для перезагрузки в исследовательский режим или он должен обладать правами администратора.

Находясь в исследовательском режиме, используйте команду «Reboot» (перезагрузить) для возврата в режим диагностики. После возврата в режим диагностики отобразится запрос на выполнение мойки после рабочего цикла.

Команда перезагрузки для перехода в режим исследования

- 1 На главном экране выберите **Manage Instrument** (управление прибором).
- 2 Выберите **Reboot to Research Mode** (перезагрузить в режим исследования).

Перезагрузка системного ПО

Используйте команду «Reboot» (перезагрузить) для перезагрузки системного ПО. Во время регулярного обслуживания не требуется выполнять перезагрузку ПО.

- 1 На главном экране выберите **Manage Instrument** (управление прибором).
- 2 Выберите **Reboot** (перезагрузить).

Начало работы

Запуск генетического секвенатора MiSeqDx	12
Установка параметра мойки после рабочего цикла.....	13
Установка параметра автоматического запуска рабочего цикла.....	14
Установка параметра отправки сведений о состоянии прибора.....	15
Настройка предпочтений электронной почты	16
Указание местонахождения по умолчанию для папки выходных данных.....	17
Необходимые расходные материалы	18
Хранение и обращение	18



Запуск генетического секвенатора MiSeqDx

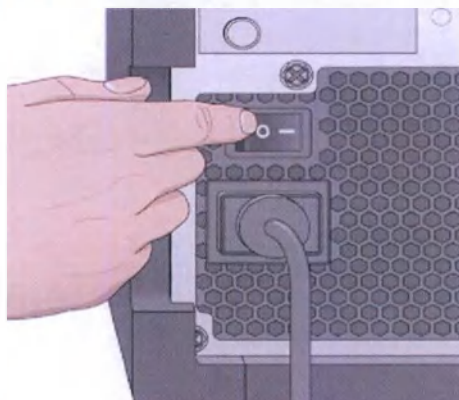


ПРИМЕЧАНИЕ

Компания Illumina рекомендует оставлять прибор во включенном состоянии. Но если нужно выключить прибор, соблюдайте порядок выключения, описанный в разделе «Завершение работы прибора» на стр. 47. Подождите не менее 60 секунд перед повторным включением питания прибора.

- 1 Если генетический секвенатор MiSeqDx еще не включен, то на задней панели в правой части прибора найдите выключатель питания. Он находится в нижнем углу, непосредственно над кабелем питания.

Рисунок 3. Местонахождение выключателя питания



- 2 Переведите выключатель питания во включенное положение. На приборе запустится встроенный компьютер.
- 3 Зарегистрируйтесь в операционной системе. Подождите до завершения загрузки операционной системы. Рабочее ПО MiSeq (MOS) автоматически запускает и инициализирует прибор.
- 4 По завершению этапа инициализации необходимо зарегистрироваться, используя имя пользователя и пароль для ПО Local Run Manager.
- 5 Щелкните Next (далее). Откроется главный экран.

Установка параметра мойки после рабочего цикла

Необходимо промывать прибор после каждого рабочего цикла. Программа требует, чтобы мойка была выполнена до настройки последующего рабочего цикла. Параметр мойки после рабочего цикла задает тип мойки по умолчанию. Процесс мойки после рабочего цикла занимает порядка 20 минут. Профилактическая мойка занимает порядка 90 минут.

- 1 На главном экране выберите **Run Options** (параметры рабочего цикла).
- 2 Выберите вкладку **Run Settings** (настройки рабочего цикла).
- 3 Выберите **Post Run Wash** (мойка после рабочего цикла) или **Maintenance Wash** (профилактическая мойка).

Установка параметра автоматического запуска рабочего цикла

- 1 На главном экране выберите **Run Options** (параметры рабочего цикла).
- 2 Выберите вкладку **Run Settings** (настройки рабочего цикла).
- 3 Поставьте галочку возле **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation (запустить рабочий цикл после предварительной проверки; подтверждение не предлагать)**. Этот параметр позволяет автоматически запустить рабочий цикл секвенирования после успешного выполнения автоматической проверки. Если этот параметр отключен, запустите рабочий цикл вручную после предварительной проверки.

Установка параметра отправки сведений о состоянии прибора

- 1 На главном экране выберите **Run Options** (параметры рабочего цикла).
- 2 Выберите вкладку **Run Settings** (настройки рабочего цикла).
- 3 Выберите **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (отправить сведения о состоянии прибора в Illumina для обеспечения технической поддержки), чтобы включить службу контроля Illumina Proactive. Имя данного параметра в интерфейсе программы может отличаться от имени, указанного в настоящем руководстве, поскольку оно зависит от используемой версии MOS.
Если включить этот параметр, то технические данные прибора будут отправляться в компанию Illumina. Эти данные существенно облегчают компании Illumina устранение неполадок и обнаружение возможных неисправностей, позволяя проводить профилактическое обслуживание и максимально увеличивая полезное время работы прибора.

Эта служба:

- ▶ Не отправляет данные секвенирования
- ▶ Требуется подключения прибора к сети с доступом к Интернету
- ▶ Выключается по умолчанию. Чтобы подписаться на эту службу, включите параметр **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (отправить сведения о состоянии прибора в Illumina для обеспечения технической поддержки).

Настройка предпочтений электронной почты

Можно настроить генетический секвенатор MiSeqDx так, чтобы программа отправляла уведомления по электронной почте по завершению анализа RTA, по завершению прибором вторичного анализа или при возникновении критической ошибки программы MiSeqDx. Обычно это настраивается во время установки генетического секвенатора MiSeqDx. Для использования данной функции пользователь должен обладать правами администратора.

- 1 На главном экране выберите **Run Options** (параметры рабочего цикла).
- 2 Выберите вкладку **Email Notifications** (уведомления по электронной почте).
- 3 Введите следующую информацию:
 - ▶ **Local SMTP email server address** (адрес локального SMTP-сервера электронной почты) — используйте экранную клавиатуру для ввода адреса локального SMTP-сервера электронной почты. При необходимости обратитесь за информацией к администратору учреждения.
 - ▶ **Sender email address** (адрес электронной почты отправителя) — используйте экранную клавиатуру для ввода адреса электронной почты отправителя. Это может быть ваш или другой адрес электронной почты, на который будут отправляться уведомления. Адрес электронной почты отправителя должен иметь такое же доменное имя, что и адрес сервера электронной почты.
 - ▶ **Recipient Addresses** (адрес получателя) — используйте экранную клавиатуру для ввода адресов электронной почты всех получателей уведомлений. Отделите адреса друг от друга с помощью запятой. Выберите **Test** (тестирование) для отправки пробного письма по электронной почте получателям уведомлений.
 - ▶ **Notify via email when** (уведомлять по электронной почте, когда) — поставьте галочки возле каждого события рабочего цикла, при возникновении которого запускается уведомление.

Указание местонахождения по умолчанию для папки выходных данных

В папке выходных данных генетического секвенатора MiSeqDx задается местоположение по умолчанию для файлов выходных данных анализа. Папки могут находиться в локальной сети или в вычислительном устройстве прибора. Вместо заданной по умолчанию папки выходных данных укажите местонахождение в сети для совместного использования или длительного хранения.

- 1 На главном экране выберите **Run Options** (параметры рабочего цикла).
- 2 Выберите вкладку **Run Settings** (настройки рабочего цикла).
- 3 Введите местонахождение папки выходных данных.
Обязательно введите полный путь UNC, например, \\YourServer\Path\OutputFolder.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

При использовании сопоставленного диска, например, Z:\OutputFolder, анализ рабочего цикла секвенирования не заканчивается.

Необходимые расходные материалы

Расходные материалы для секвенирования

Расходные материалы, необходимые для работы генетического секвенатора MiSeqDx, поставляются отдельно и входят в комплект для проведения диагностики *in vitro*.

Расходные материалы, приобретаемые пользователем

Перед началом рабочего цикла убедитесь в наличии следующих расходных материалов, приобретаемых пользователем.

Расходные материалы	Назначение
Салфетки, смоченные изопропиловым спиртом (70 %) или Этиловый спирт (70 %)	Чистка стекла и подставки для проточной ячейки
Лабораторная ткань, безворсовая	Чистка подставки для проточной ячейки
Бумага для оптических стекол, 4 x 6 дюймов	Чистка проточной ячейки
Пробирки для MiSeq	Промывка линии образца (дополнительно)
NaOCl, 5 %	Промывка линии образца (дополнительно)
Твин 20	Мойка прибора
Пинцет с квадратными пластмассовыми кончиками (дополнительно)	Извлечение проточной ячейки из транспортного контейнера
Вода лабораторная	Мойка прибора

Рекомендации касательно лабораторной воды

При выполнении любых процедур, связанных с прибором, всегда используйте лабораторную воду. Запрещается использовать воду из-под крана.

Вот несколько примеров воды подходящего качества:

- ▶ Illumina PW1
- ▶ Вода с удельным сопротивлением 18 МОм-см (Mfl)
- ▶ Вода Milli-Q
- ▶ Вода Super-Q
- ▶ Вода для молекулярной биологии

Хранение и обращение

Параметр	Характеристики
Температура	Транспортировка и хранение: от -10 °C до 40 °C Условия эксплуатации: от 19 °C до 25 °C
Влажность	Транспортировка и хранение: Без образования конденсата Условия эксплуатации: относительная влажность 30–75 % (без образования конденсата)

Секвенирование

Введение	20
Длительность рабочего процесса	21
Рабочий процесс MiSeqDx	22
Подготовка картриджа с реагентами	23
Регистрация и следование напоминаниям для секвенирования	25
Очищение проточной ячейки	26
Загрузка проточной ячейки	28
Загрузка реагентов	30
Контроль рабочего цикла	32
Мойка прибора после рабочего цикла	34



Введение

Для выполнения рабочего цикла на генетическом секвенаторе MiSeqDx необходимо придерживаться этапов настройки, описанных в данной главе. После начала рабочего цикла вмешательства пользователя не требуется.

По завершению рабочего цикла секвенирования следует промыть прибор.

Длительность рабочего процесса

Длительность рабочего цикла зависит от числа выполненных циклов. В зависимости от характеристик реагентов для секвенирования, генетический секвенатор MiSeqDx может выполнять рабочий цикл парно-концевого секвенирования до 2 x 301 циклов секвенирования.

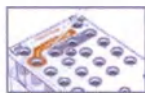
Число циклов за одно считывание

Число циклов, выполненных за одно считывание, на одно превышает количество проанализированных циклов. Один дополнительный цикл нужен для расчетов фазирования и предварительного фазирования.

Например, во время парно-концевого рабочего цикла на 150 циклов осуществляется 302 цикла (2 x 151) считывания, плюс циклы для считывания индексов. В конце рабочего цикла проводится анализ 2 x 150 циклов.

Рабочий процесс MiSeqDx

Перед настройкой рабочего цикла убедитесь, что библиотеки образцов уже загружены в картридж с реагентами. Эти действия применимы к любому протоколу анализа.



Подготовьте картридж с реагентами, а затем загрузите объединенные библиотеки в обозначенный резервуар.



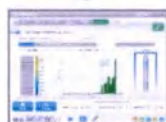
В интерфейсе программы выберите **Sequence**, чтобы запустить этапы настройки рабочего цикла.



Помойте и тщательно высушите проточную ячейку.
Для загрузки проточной ячейки следуйте напоминаниям программы



Пользуясь напоминаниями программы, загрузите флакон с буфером SBS (PR2) MiSeqDx. Убедитесь, что сливная емкость пуста, и загрузите картридж с реагентами.



При желании можно контролировать рабочий цикл, глядя на экран секвенирования.



Промойте прибор по завершению рабочего цикла, используя лабораторную воду.

Формирование кластера

Во время формирования кластеров отдельные молекулы ДНК связываются с поверхностью проточной ячейки, после чего амплифицируются в процессе мостиковой ПЦР для формирования кластеров.

Секвенирование

После формирования кластеров, с использованием LED и комбинаций фильтров, специфичных для каждого из 4 флуоресцентно меченных дидезоксинуклеотидов, формируются изображения. По завершению съемки одной части поля проточной ячейки сама проточная ячейка перемещается для съемки следующей части. Процесс повторяется, пока не будут отсняты все части. После анализа изображения программа проводит первичный анализ, который включает в себя определение азотистых оснований, фильтрацию и оценку качества.

Анализ

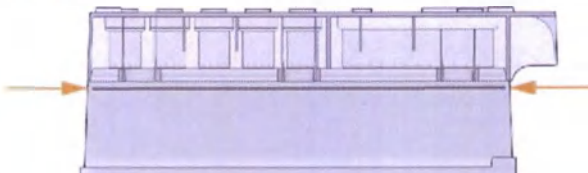
По завершению рабочего цикла автоматически запускается Local Run Manager для выполнения вторичного анализа. Вторичный анализ можно контролировать через подключение к Интернету с другого компьютера. См. в документе «Программный модуль Local Run Manager. Справочное руководство к генетическому секвенатору MiSeqDx.» (№ 1000000011880).

Подготовка картриджа с реагентами

В следующих инструкциях описывается процесс разморозки картриджа с реагентами на водяной бане при комнатной температуре.

- 1 Извлеките картридж с реагентами из холодильника, где он хранился при температуре от -25°C до -15°C .
- 2 Поставьте картридж с реагентами в емкость, заполненную достаточным количеством деионизированной воды комнатной температуры, и погрузите основание картриджа до отметки - линии, нанесенной на его корпусе. Уровень воды не должен превышать максимальную отметку.

Рисунок 4. Линия максимального уровня погружения в воду



- 3 Полностью разморозьте картридж с реагентами на водяной бане комнатной температуры. Размораживание может занять от 60 до 90 минут, в зависимости от типа картриджа с реагентами. Более подробную информацию см. на вкладыше упаковки комплекта для проведения анализа.
- 4 Достаньте картридж из воды и аккуратно постучите им о стол, чтобы стряхнуть воду с основания картриджа. Вытрите основание картриджа. Убедитесь в отсутствии капель сверху картриджа с реагентами.

Проверка картриджа с реагентами

- 1 Переверните картридж десять раз, чтобы перемешать размороженные реагенты, а затем проверьте полноту размораживания каждой позиции реагентов.



ПРИМЕЧАНИЕ

Для качественного секвенирования очень важно, чтобы реагенты в картридже были полностью разморожены и тщательно перемешаны.

- 2 Проверьте реагенты в положениях 1, 2 и 4 и убедитесь, что они полностью перемешались и не имеют осадка.
- 3 Аккуратно постучите картриджем о стол, чтобы уменьшить количество пузырьков воздуха в реагентах.



ПРИМЕЧАНИЕ

Трубки генетического секвенатора MiSeqDx опускаются на дно каждой емкости для аспирирования реагентов, поэтому важно, чтобы в емкостях не было пузырьков воздуха.

- 4 Поместите картридж с реагентами в лед или оставьте при температуре от 2°C до 8°C (до 6 часов), пока не будете готовы к настройке рабочего цикла. Для получения оптимальных результатов необходимо сразу переходить к загрузке образца и настройке рабочего цикла.

Загрузка библиотек образцов в картридж

Когда картридж с реагентами полностью разморозится и готов к использованию, можно загружать образцы в картридж.

- 1 Чтобы проткнуть уплотнение из фольги над емкостью, расположенной на картридже с реагентами и имеющей этикетку **Load Samples** (загрузка образцов), используйте отдельный, чистый и пустой наконечник объемом 1 мл



ПРИМЕЧАНИЕ

Не прокалывайте остальные положения с реагентами. Остальные положения с реагентами прокалываются автоматически во время рабочего цикла.

- 2 Внесите пипеткой 600 мкл из библиотеки образцов **DAL** в емкость **Load Samples** (загрузка образцов). Не прикасайтесь к уплотнению из фольги.
- 3 Проверьте отсутствие пузырьков воздуха в емкости после загрузки образца. Если есть пузырьки, аккуратно постучите картриджем о стол, чтобы они вышли.

Рисунок 5. Загрузка библиотек



- 4 Перейдите непосредственно к этапам настройки рабочего цикла, используя интерфейс рабочего ПО MiSeq (MOS).

Регистрация и выполнение подсказок для секвенирования

- 1 На главном экране выберите **Sequence** (последовательность).
- 2 Когда откроется экран регистрации, введите соответствующие учетные данные пользователя, а затем выберите **Next** (далее). После регистрации снова выберите **Sequence** (последовательность).
- 3 Выберите рабочий цикл из списка
- 4 [Опционально] Выберите **Preview Samples** (предварительный просмотр образцов), чтобы просмотреть список образцов в рабочем цикле.
- 5 Выберите **Next** (далее).
- 6 Пользуясь подсказками, загрузите проточную ячейку и реагенты, а затем настройте рабочий цикл (описанный в следующих разделах).

Очищение проточной ячейки

Проточная ячейка поставляется в контейнере с буфером для хранения.

- 1 Наденьте новую пару неопудренных перчаток.
- 2 Используя пластмассовый пинцет, возьмите проточную ячейку за основание пластмассового картриджа и извлеките ее из контейнера.

Рисунок 6. Извлечение проточной ячейки



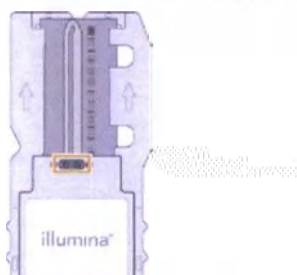
- 3 Слегка оросите проточную ячейку лабораторной водой, убедитесь, что полностью смыли остатки соли со стекла и пластмассового картриджа. Оставшаяся соль может помешать посадке проточной ячейки в приборе. Если соль засохнет в поле, где снимаются изображения, это может повлиять на качество изображения.

Рисунок 7. Промывка проточной ячейки



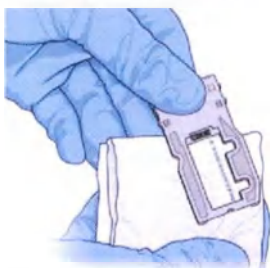
- 4 Будучи предельно осторожным в области черной прокладки отверстия проточной ячейки (обведенной оранжевой линией на следующем рисунке), тщательно высушите проточную ячейку и картридж с помощью безворсовой ткани для чистки линз. Осторожно вытрите насухо область прокладки и прилегающее стекло.

Рисунок 8. Отверстия и прокладка проточной ячейки



- 5 Вытрите стекло проточной ячейки салфеткой, смоченной спиртом. Убедитесь, что на стекле отсутствуют полосы, следы пальцев, ворс или волокна ткани. Не используйте смоченные спиртом салфетки на прокладке отверстия проточной ячейки.

Рисунок 9. Сушка проточной ячейки

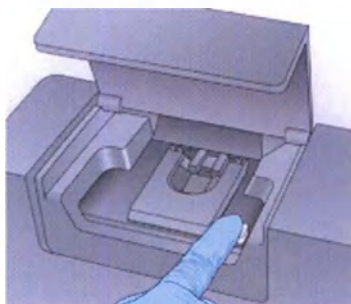


- 6 Вытрите оставшийся спирт с помощью безворсовой ткани для чистки линз.
- 7 Убедитесь, что отверстия проточной ячейки не закупорены, а прокладка хорошо сидит на ее отверстиях.
Если прокладка сместилась, аккуратно прижмите ее на место, чтобы она надежно села на отверстиях проточной ячейки.

Загрузка проточной ячейки

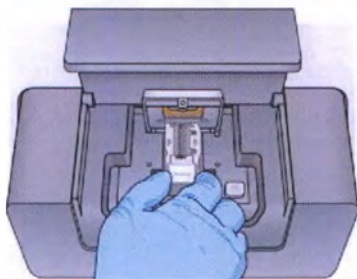
- 1 Откройте дверцу отсека проточной ячейки, а затем нажмите кнопку блокировки справа от защелки проточной ячейки. Защелка проточной ячейки откроется.

Рисунок 10. Открывание защелки проточной ячейки



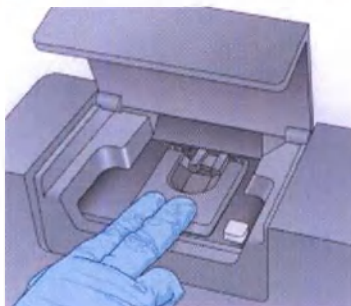
- 2 Убедитесь, что на подставке для проточной ячейки отсутствуют ворсинки. Если есть ворсинки или другое загрязнение, необходимо почистить подставку для проточной ячейки, используя смоченную спиртом салфетку или безворсовую ткань, смоченную этиловым или изопропиловым спиртом. Аккуратно вытрите поверхность подставки для проточной ячейки, чтобы она стала чистой и сухой.
- 3 Удерживая проточную ячейку за края картриджа, разместите ее на подставке для проточной ячейки.

Рисунок 11. Размещение проточной ячейки на подставке



- 4 Для того, чтобы закрыть, аккуратно нажмите на защелку проточной ячейки.
При закрывании защелки проточной ячейки установочные штырьки придают определенное положение проточной ячейке. Слышимый щелчок свидетельствует о надежной фиксации защелки проточной ячейки.

Рисунок 12. Закрывание защелки проточной ячейки.



- 5 Если программа не может распознать радиочастотный идентификатор проточной ячейки, см. раздел «Устранение сбоя при считывании радиочастотного идентификатора» на стр. 56.



ПРИМЕЧАНИЕ



Если невозможно выполнить считывание радиочастотного идентификатора, можно ввести идентификационные сведения вручную. При этом программа допускает сбой только для одного из трех компонентов с радиочастотным индикатором (проточная ячейка, картридж с реагентами, буфер SBS (PR2) MiSeqDx) во время рабочего цикла в лабораторных условиях. Более подробные сведения см. в разделе «Устранение сбоя при считывании радиочастотного идентификатора» на стр. 56.

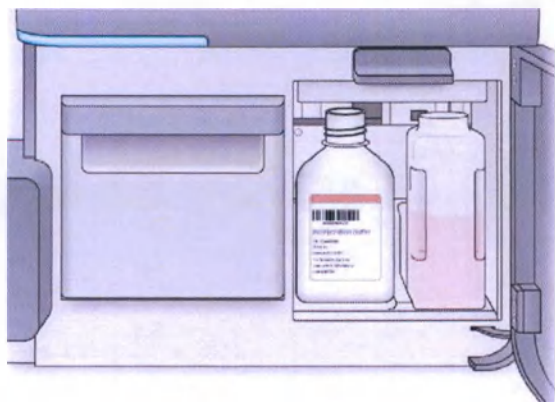
- 6 Закройте дверцу отсека проточной ячейки.
- 7 Выберите **Next** (далее).

Загрузка реагентов

Загрузка буфера SBS (PR2) MiSeqDx и проверка сливной емкости

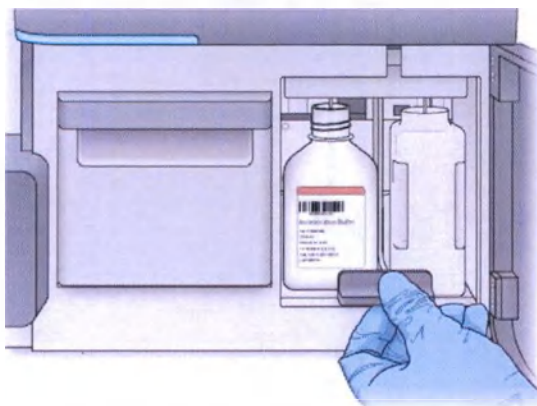
- 1 Извлеките флакон с буфером SBS (PR2) MiSeqDx из места хранения при температуре от 2 °C до 8 °C. Переверните ее, чтобы перемешать содержимое, а затем снимите крышку.
- 2 Откройте дверцу отсека реагентов.
- 3 Поднимите ручку трубок, чтобы она зафиксировалась на месте.
- 4 Извлеките флакон для промывки и загрузите флакон с буфером SBS (PR2) MiSeqDx.

Рисунок 13. Загрузка флакона с буфером SBS (PR2) MiSeqDx



- 5 Опорожните сливную емкость в соответствующий контейнер.
- 6 Медленно опустите ручку трубок. Убедитесь, что трубки опустились во флакон с буфером SBS (PR2) MiSeqDx и сливную емкость.

Рисунок 14. Опускание ручки трубок



- 7 Если программа не может распознать радиочастотный идентификатор флакона с буфером SBS (PR2) MiSeqDx, см. раздел «Устранение сбоя при считывании радиочастотного идентификатора» на стр. 56.



ПРИМЕЧАНИЕ

Если невозможно выполнить считывание радиочастотного идентификатора, можно ввести идентификационные сведения вручную. При этом программа допускает сбой только для одного из трех компонентов с радиочастотным индикатором (проточная ячейка, картридж с реагентами, буфер SBS (PR2) MiSeqDx) во время рабочего цикла в лабораторных условиях. Более подробные сведения см. в разделе «Устранение сбоя при считывании радиочастотного идентификатора» на стр. 56.

- 8 Выберите **Next** (далее).

Загрузка картриджа с реагентами



ПРИМЕЧАНИЕ

Не оставляйте дверцу охладителя реагентов открытой надолго.

- 1 Откройте дверцу охладителя реагентов.
- 2 Возьмите картридж с реагентами за часть, на которой имеется этикетка компании Illumina, и вставьте его до упора в охладитель реагентов.

Рисунок 15. Загрузка картриджа с реагентами



- 3 Закройте дверцу охладителя реагентов.
- 4 Если программа не может распознать радиочастотный идентификатор картриджа с реагентами, см. раздел «Устранение сбоя при считывании радиочастотного идентификатора» на стр. 56.



ПРИМЕЧАНИЕ

Если невозможно выполнить считывание радиочастотного идентификатора, можно ввести идентификационные сведения вручную. При этом программа допускает сбой только для одного из трех компонентов с радиочастотным индикатором (проточная ячейка, картридж с реагентами, буфер SBS (PR2) MiSeqDx) во время рабочего цикла в лабораторных условиях. Более подробные сведения см. в разделе «Устранение сбоя при считывании радиочастотного идентификатора» на стр. 56.

- 5 Для запуска рабочего цикла выберите один из следующих параметров.
 - ▶ Если система не настроена для автоматического запуска после успешного выполнения проверки, выберите **Start Run** (запустить рабочий цикл).
 - ▶ Если система настроена для автоматического запуска после успешного выполнения проверки, рабочий цикл секвенирования начинается автоматически. Ваше присутствие не требуется. Но если во время проверки возникнут какие-либо ошибки, рабочий цикл не запустится автоматически.



ПРИМЕЧАНИЕ

Если температура в охладителе реагентов не соответствует допустимой, то рабочий цикл секвенирования не запускается. См. раздел «Устранение ошибок, связанных с температурой в охладителе реагентов» на стр. 62.

Важное замечание перед запуском рабочего цикла



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Генетический секвенатор MiSeqDx чувствителен к вибрации. Прикосновение к прибору после запуска рабочего цикла может негативно повлиять на результаты секвенирования.

После загрузки картриджа с реагентами и закрытия дверцы отсека реагентов не открывайте дверцы отсека проточной ячейки или отсека реагентов, и не трогайте монитор прибора, если только вам не нужно приостановить рабочий цикл. Более подробные сведения см. в разделе «Приостановка рабочего цикла» на стр. 53.

Контроль рабочего цикла

- Во время рабочего цикла можно контролировать ход его выполнения, интенсивность и качественные показатели, которые отображаются на экране секвенирования. Экран секвенирования служит только для просмотра.

- ▶ **Run Progress** (ход выполнения рабочего цикла) — отображает индикатор состояния и указывает число выполненных циклов.
- ▶ **Intensity** (интенсивность) — отображает значение интенсивности кластера с процентилем 90 % для каждой части поля проточной ячейки. График в области экрана, отображающего интенсивность отображает число отснятых частей поля проточной ячейки.
- ▶ **Q-Score All Cycles** (качественные показатели всех циклов) — отображает среднее значения процента оснований выше Q30, которое является измерением показателя качества (Q-score, т. е. показатель качества). Показатель качества прогнозирует вероятность неверного определения азотистых оснований. Показатели качества вычисляются после 25 циклов.

Показатель качества	Вероятность неверного определения азотистых оснований
Q40	1 из 10000
Q30	1 из 1000
Q20	1 из 100
Q10	1 из 10

- ▶ **Плотность кластера (К/мм²)** — отображает число кластеров на квадратный мм для рабочего цикла. Оптимальная плотность кластера составляет 800 К/мм².



ПРИМЕЧАНИЕ

Чистота определения азотистых оснований это соотношение интенсивности самого высокого сигнала, поделенная на сумму двух самых высоких сигналов. Если больше чем 1 азотистое основание имеет значение чистоты меньше 0,6 за первые 25 циклов, то считывание не проходит фильтр качества.

- ▶ **Расчетная продуктивность (Мб)** — показывает предполагаемое число оснований, определенных за рабочий цикл, которое измеряется в мегабазах. Эти данные появляются только после 25 циклов.

- По завершению рабочего цикла появляется кнопка Next (далее). Перед тем, как перейти к следующим действиям, просмотрите результаты на экране секвенирования.



ПРИМЕЧАНИЕ

Экран секвенирования отображается до тех пор, пока не будет выбрано Next (далее). После выбора Next (далее) уже невозможно вернуться на экран секвенирования.

- Выберите **Next** (далее), чтобы выйти из экрана секвенирования и перейти к промыванию прибора после рабочего цикла.

Рисунок 16. Экран секвенирования



Создание образца

Для создания образца во время анализа в реальном времени (RTA) используются первые четыре цикла рабочего процесса секвенирования. Создание образца — это процесс, при котором положения кластера по всей поверхности проточной ячейки определяются в соответствии с координатами по оси X и Y.

После создания образца положений кластера, изображения генерируются для каждого последующего цикла, и сравниваются в соответствие с образцом. Извлекаются показатели интенсивности отдельных кластеров по всем четырем цветовым каналам нуклеотидов, и определение основания получается на основании нормализованных интенсивностей.

Показатели рабочего цикла

Показатели рабочего цикла отображаются на экране секвенирования на разных этапах рабочего цикла. Во время создания кластера показатели не отображаются.

После начала секвенирования для указанных циклов появляются следующие показатели:

Показатель	Цикл
Интенсивность	Цикл 1–4 или 1–7, в зависимости от комплекта.
Интенсивность и плотность кластеров	Цикл 5–25 или 8–25, в зависимости от комплекта.
Интенсивность, плотность кластеров, % PF, продуктивность и показатель качества	От цикла 26 и до завершения рабочего цикла — для всех комплектов.

Выполнение мойки после рабочего цикла

Мойка после рабочего цикла — это стандартное промывание прибора, которое выполняется между рабочими циклами секвенирования. Всегда выполняйте промывание прибора по завершению рабочего цикла секвенирования. Пользуясь подсказками программы, загрузите необходимые компоненты и выполните промывание. Процесс промывания после рабочего цикла занимает порядка 20 минут.

Выполните промывание сразу же после рабочего цикла. Промывание прибора необходимо выполнить до настройки следующего рабочего цикла. Чтобы выполнить промывание не сразу после рабочего цикла, используйте команду на экране Perform Wash (выполнение промывания) для запуска.

Регулярная мойка прибора обеспечивает длительную эксплуатацию и позволяет:

- ▶ Удалить оставшиеся реагенты из линий струйной автоматики и трубок
- ▶ Предотвратить накопление соли и кристаллизацию в линиях струйной автоматики и трубках
- ▶ Предотвратить перекрестную контаминацию после предыдущего рабочего цикла

Можно выполнить мойку после рабочего цикла, во время которой осуществляется промывание линии образца с использованием раствора гипохлорида натрия (NaOCl). Мойка занимает около 30 минут. См. раздел «Процедура с промыванием линии образца» на стр. 35.



ПРИМЕЧАНИЕ

Оставьте использованную проточную ячейку в приборе. Для выполнения промывания прибора проточная ячейка должна быть загружена в прибор.

Расходные материалы, приобретаемые пользователем

- ▶ Твин 20 (Sigma-Aldrich, № по каталогу P7949)
- ▶ Лабораторная вода
- ▶ NaOCl (используется для промывания после рабочего цикла, включая мойку линии образца)
- ▶ Пробирка MiSeq (№ по каталогу MS-102-9999) (используется для промывания после рабочего цикла, включая промывание линии образца)

Процедура

- 1 Приготовьте свежий раствор для промывания из Твин 20 и лабораторной воды следующим образом:
 - а Добавьте 5 мл неразбавленного средства Твин 20 в 45 мл лабораторной воды. В результате получится 10 % раствор Твин 20.
 - а Добавьте 25 мл 10 % Твин 20 в 475 мл лабораторной воды. В результате получится 0,5 % моющий раствор Твин 20.
 - с Переверните несколько раз, чтобы перемешать.
- 2 Подготовьте компоненты для промывания, используя свежий 0,5 % моющий раствор Твин 20 следующим образом:
 - а Добавьте 6 мл моющего раствора в каждую емкость промывочного лотка.
 - б Добавьте 350 мл моющего раствора во флакон для промывки объемом 500 мл.
- 3 На экране промывания, выполняемого после рабочего цикла, нажмите **Start Wash** (начать мойку). Программа автоматически поднимает трубки в охладителе реагентов. Перед дальнейшими действиями подождите несколько секунд и убедитесь, что трубки полностью подняты.
 Не нажимайте **Perform optional template line wash** (выполнить дополнительную мойку линии образца) на экране промывания, выполняемого после рабочего цикла. Промывание линии образца требует другой процедуры. См. раздел «Процедура с мойкой линии образца» на стр. 35.
- 4 Откройте дверцу отсека реагентов и дверцу охладителя реагентов, а затем извлеките использованный картридж с реагентами из охладителя.

- 5 Вставьте промывочный лоток в охладитель реагентов до упора, а затем закройте дверцу охладителя.
- 6 Поднимите ручку трубок, расположенную перед флаконом с буфером SBS (PR2) MiSeqDx и сливной емкостью, чтобы она зафиксировалась.
- 7 Извлеките флакон с буфером SBS (PR2) MiSeqDx и замените его промывочным флаконом.

**ПРИМЕЧАНИЕ**

После каждого рабочего цикла необходимо утилизировать флакон из-под буфера SBS (PR2) MiSeqDx. Запрещается повторно использовать оставшийся буфер SBS (PR2) MiSeqDx.

- 8 Извлеките сливную емкость и соответствующим образом утилизируйте ее содержимое. Установите сливную емкость обратно в отсек реагентов.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ**

Данный набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. Вдыхание, проглатывание этих веществ или их попадание на кожу или в глаза может нанести ущерб здоровью. Пользуйтесь средствами индивидуальной защиты, такими как защитные очки, перчатки и лабораторный халат, соответствующие риску воздействия. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и утилизировать их в соответствии с действующими региональными, национальными и местными законами и правилами. Дополнительную информацию относительно охраны окружающей среды, охраны труда и техники безопасности см. в паспорте безопасности на support.illumina.com/sds.html.

- 9 Медленно опустите ручку трубок и убедитесь, что трубки опустились в промывочный флакон и сливную емкость.
- 10 Закройте дверцу отсека реагентов.
- 11 Выберите **Next** (далее). Начнется промывание, выполняемое после рабочего цикла. По завершению процесса промывания оставьте в приборе использованную проточную ячейку, промывочный лоток и промывочный флакон с остатками моющего раствора.

**ПРИМЕЧАНИЕ**

Нормальное положение трубок - в опущенном состоянии. Оставьте неиспользованный моющий раствор в промывочном лотке и промывочном флаконе, чтобы трубки не высохли и воздух не попал в систему.

Процедура с мойкой линии образца

- 1 Приготовьте свежий моющий раствор из Твин 20 и лабораторной воды следующим образом:
 - a Добавьте 5 мл неразбавленного средства Твин 20 в 45 мл лабораторной воды. В результате получится 10 % раствор Твин 20.
 - a Добавьте 25 мл 10 % раствора Твин 20 в 475 мл лабораторной воды. В результате получится 0,5 % моющий раствор Твин 20
 - c Переверните пять раз, чтобы перемешать.
- 2 Приготовьте свежий моющий раствор NaOCl следующим образом, используя лабораторную воду.
 - a Добавьте 36 мкл 5 % раствора NaOCl в 864 мкл лабораторной воды. В результате получится раствор NaOCl с разведением 1:25.
 - b Добавьте 50 мкл раствора NaOCl с разведением 1:25 в 950 мкл лабораторной воды в пробирку MiSeq (№ по каталогу MS-102-9999).

**ПРИМЕЧАНИЕ**

Очень важно использовать правильную концентрацию NaOCl. Обязательно проверьте процентное отношение NaOCl на этикетке изделия. Если концентрация будет слишком высокой, это может отрицательно сказаться на формировании кластеров в последующих рабочих циклах. Если у вас нет 5 % раствора NaOCl, сделайте 1 мл 0,01 % раствора NaOCl в лабораторной воде. Не используйте NaOCl во время профилактической мойки или мойки перед простоем.

- 3 Подготовьте компоненты для промывания, используя свежий моющий раствор следующим образом:

- а Добавьте 6 мл моющего раствора в каждую емкость промывочного лотка.
- б Добавьте 350 мл моющего раствора во флакон для промывки объемом 500 мл.
- 4 Вставьте пробирку MiSeq, в которой содержится моющий 0,01 %, раствор NaOCl в положение 17 на промывочном лотке, чтобы горловина пробирки была вровень с лотком. Пробирка вытесняет моющий раствор из Твин 20 и лабораторной воды из положения 17.

Рисунок 17. Пробирка MiSeq в положении 17 на промывочном лотке



ПРИМЕЧАНИЕ

Пробирку MiSeq с раствором NaOCl можно вставлять только в положение 17 на лотке. Установка пробирки в другое положение может отрицательно сказаться на формировании кластеров в последующих рабочих циклах и повредить систему струйной автоматики генетического секвенатора MiSeqDx.

- 5 По завершению рабочего цикла нажмите **Start Wash** (начать промывание). Программа автоматически поднимает трубки в охладителе реагентов.
- 6 На экране нажмите **Perform optional template line wash** (выполнить дополнительное промывание линии образца).
- 7 Откройте дверцу отсека реагентов и дверцу охладителя реагентов, а затем извлеките использованный картридж с реагентами из охладителя.
- 8 Вставьте промывочный лоток в охладитель реагентов до упора, а затем закройте дверцу охладителя.
- 9 Поднимите ручку трубок, расположенную перед флаконом буфера SBS (PR2) MiSeqDx и сливной емкостью, чтобы она зафиксировалась.
- 10 Извлеките флакон буфера SBS (PR2) MiSeqDx и замените ее промывочным флаконом.
- 11 Извлеките сливную емкость и соответствующим образом утилизируйте ее содержимое. Установите сливную емкость обратно в отсек реагентов.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Данный набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. Вдыхание, проглатывание этих веществ или их попадание на кожу или в глаза может нанести ущерб здоровью. Пользуйтесь средствами индивидуальной защиты, такими как защитные очки, перчатки и лабораторный халат, соответствующие риску воздействия. С использованными реагентами следует обращаться как с химическими отходами и утилизировать их в соответствии с действующими региональными, национальными и местными законами и правилами. Дополнительную информацию относительно охраны окружающей среды, охраны труда и техники безопасности см. в паспорте безопасности на support.illumina.com/sds.html.

- 12 Медленно опустите ручку трубок и убедитесь, что трубки опустились в промывочный флакон и сливную емкость.
- 13 Закройте дверцу отсека реагентов.
- 14 Выберите **Next** (далее). Начнется промывание, выполняемое после рабочего цикла.

По завершению промывания оставьте в приборе использованную проточную ячейку, промывочный лоток и промывочный флакон с остатками моющего раствора.



ПРИМЕЧАНИЕ

Нормальное положение трубок - в опущенном состоянии. Оставьте неиспользованный моющий раствор в промывочном лотке и промывочном флаконе, чтобы трубки не высохли и воздух не попал в систему.

[Данная страница намеренно оставлена пустой]

Процедуры обслуживания

Периодичность обслуживания.....	40
Профилактическое обслуживание	41
Выполнение профилактической мойки	42
Мойка перед простоем.....	45
Завершение работы прибора	47



Периодичность обслуживания

В следующих таблицах указана периодичность выполнения работ по обслуживанию, описанных в данном разделе.

Таблица 1. Обслуживание при эксплуатации в обычных условиях

Операция	Ежедневно	Ежемесячно	По необходимости
Профилактическая мойка		X	
Мойка перед простоем			Для подготовки к простоему (не используется ≥ 7 дней)
Выключение прибора			X

Таблица 2. Обслуживание во время простоя (не используется ≥ 7 дней)

Операция	Ежедневно	Ежемесячно	По необходимости
Мойка перед простоем		X	
Выключение прибора			X

Профилактическое обслуживание

Компания Illumina рекомендует проводить профилактическое обслуживание один раз в календарный год. Если вы заключили договор на обслуживание, обратитесь к территориальному специалисту по работе с клиентами или службу технической поддержки компании Illumina, чтобы организовать проведение платного профилактического обслуживания.

Выполнение профилактической мойки

Для обеспечения оптимальных характеристик необходимо выполнять профилактическое промывание раз в месяц. Профилактическое промывание включает в себя три этапа, во время которых осуществляется тщательное промывание системы с использованием моющего раствора, изготовленного из лабораторной воды и Твин 20. Для выполнения мойки понадобится около 90 минут.

Можно настроить генетический секвенатор MiSeqDx таким образом, что между рабочими циклами будет проводиться профилактическая мойка вместо мойки, выполняемой после рабочего цикла. См. раздел «Установка параметра мойки после рабочего цикла» на стр. 13.

Расходные материалы, приобретаемые пользователем

- ▶ Твин 20 (Sigma-Aldrich, № по каталогу P7949)
- ▶ Лабораторная вода



ВНИМАНИЕ!

Обязательно закрывайте дверцу охладителя реагентов после загрузки промывочного лотка и перед запуском процесса промывания. Это позволяет избежать возможной травмы, если ваши руки оказались на пути опускающихся трубок.

Процедура

- 1 Убедитесь, что использованная проточная ячейка загружена в прибор.
- 2 На главном экране выберите **Perform Wash** (выполнить промывание).
- 3 На экране выполнения промывания нажмите **Maintenance Wash** (профилактическая мойка). Программа автоматически поднимает трубки в охладителе реагентов.



ПРИМЕЧАНИЕ

Всегда используйте свежий моющий раствор на каждом этапе промывания. Повторное использование моющего раствора, оставшегося после предыдущей мойки, может привести к попаданию отходов в линии струйной автоматки.

Выполнение первого промывания

- 1 Приготовьте свежий моющий раствор из Твин 20 и лабораторной воды следующим образом:
 - a Добавьте 5 мл неразбавленного средства Твин 20 в 45 мл лабораторной воды. В результате получится 10 % раствор Твин 20.
 - b Добавьте 25 мл 10 % раствора Твин 20 в 475 мл лабораторной воды. В результате получится моющий 0,5 % раствор Твин 20.
 - c Переверните несколько раз, чтобы все перемешать.
- 2 Подготовьте компоненты для промывания, используя свежий моющий 0,5 % раствор Твин 20 следующим образом:
 - a Добавьте 6 мл моющего раствора в каждую емкость промывочного лотка.
 - b Добавьте 350 мл моющего раствора во флакон для промывки объемом 500 мл.
- 3 Загрузите промывочный лоток и промывочный флакон в прибор:
 - a Откройте дверцу отсека реагентов и дверцу охладителя реагентов, а затем извлеките использованный картридж с реагентами или промывочный лоток из охладителя.
 - b Вставьте промывочный лоток в охладитель реагентов до упора. Закройте дверцу охладителя реагентов.
 - c Поднимите ручку трубок, расположенную перед флаконом с буфером SBS (PR2) MiSeqDx и сливной емкостью, чтобы она зафиксировалась. Замените флакон с буфером SBS (PR2) MiSeqDx на промывочный флакон.

**ПРИМЕЧАНИЕ**

После каждого рабочего цикла необходимо утилизировать флакон из-под буфера SBS (PR2) MiSeqDx. Запрещается повторно использовать оставшийся буфер SBS (Pr2) MiSeqDx.

- d Извлеките сливную емкость и соответствующим образом утилизируйте ее содержимое. Установите сливную емкость обратно в отсек реагентов.
 - e Медленно опустите ручку трубок и убедитесь, что трубки опустились в промывочный флакон и сливную емкость.
 - f Закройте дверцу отсека реагентов.
- 4 Выберите **Next** (далее). Начнется первая промывка.

Выполнение второго промывания

- 1 Приготовьте свежий моющий раствор из Твин 20 и лабораторной воды следующим образом:
 - a Добавьте 5 мл неразбавленного средства Твин 20 в 45 мл лабораторной воды. В результате получится 10 % раствор Твин 20.
 - a Добавьте 25 мл 10 % раствора Твин 20 в 475 мл лабораторной воды. В результате получится 0,5 % моющий раствор Твин 20.
 - c Переверните несколько раз, чтобы все перемешать.
- 2 По завершению первой промывки извлеките промывочный лоток и промывочный флакон и утилизируйте оставшийся моющий раствор.
- 3 Залейте компоненты для промывания, используя свежий 0,5 % моющий раствор Твин 20 следующим образом:
 - a Добавьте 6 мл моющего раствора в каждую емкость промывочного лотка.
 - b Добавьте 350 мл моющего раствора во флакон для промывки объемом 500 мл.
- 4 Загрузите промывочный лоток и промывочный флакон следующим образом:
 - a Вставьте промывочный лоток в охладитель реагентов до упора. Закройте дверцу охладителя реагентов.
 - b Загрузите промывочный флакон и медленно опустите ручку трубок и убедитесь, что трубки опустились в промывочный флакон и сливную емкость.
 - c Закройте дверцу отсека реагентов.
- 5 Выберите **Next** (далее). Начнется второе промывание.

Выполнение последнего промывания

- 1 Приготовьте свежий моющий раствор из Твин 20 и лабораторной воды следующим образом:
 - a Добавьте 5 мл неразбавленного средства Твин 20 в 45 мл лабораторной воды. В результате получится 10 % раствор Твин 20.
 - b Добавьте 25 мл 10 % раствора Твин 20 в 475 мл лабораторной воды. В результате получится 0,5 % моющий раствор Твин 20.
 - c Переверните несколько раз, чтобы все перемешать.
- 2 По завершению второго промывания извлеките промывочный лоток и промывочный флакон и утилизируйте оставшийся моющий раствор.
- 3 Залейте компоненты для промывания, используя свежий 0,5 % моющий раствор Твин 20 следующим образом:
 - a Добавьте 6 мл моющего раствора в каждую емкость промывочного лотка.
 - b Добавьте 350 мл моющего раствора во флакон для промывки объемом 500 мл.
- 4 Загрузите промывочный лоток и промывочный флакон следующим образом:

- a Вставьте промывочный лоток в охладитель реагентов до упора. Закройте дверцу охладителя реагентов.
 - b Загрузите промывочный флакон и медленно опустите ручку трубок и убедитесь, что трубки опустились в промывочный флакон и сливную емкость.
 - c Закройте дверцу отсека реагентов.
- 5 Выберите **Next** (далее). Начнется последняя мойка.

После промывания

По завершению промывания оставьте в приборе использованную проточную ячейку, промывочный лоток и промывочный флакон с остатками моющего раствора.



ПРИМЕЧАНИЕ

Нормальное положение трубок - в опущенном состоянии. Оставьте неиспользованный моющий раствор в промывочном лотке и промывочном флаконе, чтобы трубки не высохли и воздух не попал в систему.

Мойка перед простоем

Если вы не планируете использовать прибор в течение следующих 7 дней, подготовьте его к вынужденному простоем, выполнив соответствующий вариант промывания. Промывание позволяет подготовить линии струйной автоматики к простоем и состоит из двух последовательных этапов, во время которых удаляются оставшиеся реагенты или накопившаяся соль. Каждый этап занимает порядка 60 минут. Для выполнения промывания понадобится около 2 часов.

По завершению промывания, которое выполняется перед простоем, прибор переходит в режим ожидания, а на главном экране появляется сообщение, указывающее его состояние. Когда прибор находится в режиме ожидания, то перед запуском рабочего цикла секвенирования необходимо выполнить профилактическое промывание.



ПРИМЕЧАНИЕ

Компания Illumina рекомендует проводить мойку перед простоем *раз в 30 дней* в течение всего периода простоя.

Расходные материалы, приобретаемые пользователем

- ▶ Твин 20 (Sigma-Aldrich, № по каталогу P7949)
- ▶ Лабораторная вода

Процедура

- 1 Убедитесь, что использованная проточная ячейка загружена в прибор.
- 2 На главном экране выберите **Perform Wash** (выполнить промывание).
- 3 На экране параметров промывания нажмите **Standby Wash** (мойка перед простоем). Программа автоматически поднимает трубки в охладителе реагентов.



ПРИМЕЧАНИЕ

Всегда используйте свежий моющий раствор на каждом этапе промывания. Повторное использование моющего раствора, оставшегося после предыдущего промывания, может привести к попаданию отходов в линии струйной автоматики.

Выполнение первого промывания

- 1 Приготовьте свежий моющий раствор из Твин 20 и лабораторной воды следующим образом:
 - а Добавьте 5 мл неразбавленного средства Твин 20 в 45 мл лабораторной воды. В результате получится 10 % раствор Твин 20.
 - а Добавьте 25 мл 10 % раствора Твин 20 в 475 мл лабораторной воды. В результате получится 0,5 % моющий раствор Твин 20
 - с Переверните несколько раз, чтобы все перемешать.
- 2 Подготовьте компоненты для промывания, используя свежий 0,5 % моющий раствор Твин 20 следующим образом:
 - а Добавьте 6 мл моющего раствора в каждую емкость промывочного лотка.
 - б Добавьте 350 мл моющего раствора во флакон для промывки объемом 500 мл.
- 3 Загрузите промывочный лоток и промывочный флакон в прибор:
 - а Откройте дверцу отсека реагентов и дверцу охладителя реагентов, а затем извлеките использованный картридж с реагентами или промывочный лоток из охладителя.
 - б Вставьте промывочный лоток в охладитель реагентов до упора. Закройте дверцу охладителя реагентов.
 - с Поднимите ручку трубок, расположенную перед флаконом с буфером SBS (PR2) MiSeqDx и сливной емкостью, чтобы она зафиксировалась. Замените флакон с буфером SBS (PR2) MiSeqDx на промывочный флакон.



ПРИМЕЧАНИЕ

После каждого рабочего цикла необходимо утилизировать флакон из-под буфера SBS (PR2) MiSeqDx. Запрещается повторно использовать оставшийся буфер SBS (Pr2) MiSeqDx.

- d Извлеките сливную емкость и соответствующим образом утилизируйте ее содержимое. Установите сливную емкость обратно в отсек реагентов.
 - e Медленно опустите ручку трубок и убедитесь, что трубки опустились в промывочный флакон и сливную емкость.
 - f Закройте дверцу отсека реагентов.
- 4 Выберите **Next** (далее). Начнется первое промывание.

Выполнение второго промывания

- 1 Приготовьте свежий моющий раствор из Твин 20 и лабораторной воды следующим образом:
 - a Добавьте 5 мл 100% Твин 20 в 45 мл лабораторной воды. В результате получится 10 % раствор Твин 20.
 - b Добавьте 25 мл 10 % раствора Твин 20 в 475 мл лабораторной воды. В результате получится 0,5 % моющий раствор Твин 20.
 - c Переверните несколько раз, чтобы все перемешать.
- 2 По завершению первого промывания извлеките промывочный лоток и промывочный флакон и утилизируйте оставшийся моющий раствор.
- 3 Залейте компоненты для промывания, используя свежий 0,5 % моющий раствор Твин 20 следующим образом:
 - a Добавьте 6 мл моющего раствора в каждую емкость промывочного лотка.
 - b Добавьте 350 мл моющего раствора во флакон для промывки объемом 500 мл.
- 4 Загрузите промывочный лоток и промывочный флакон следующим образом:
 - a Вставьте промывочный лоток в охладитель реагентов до упора. Закройте дверцу охладителя реагентов.
 - b Загрузите промывочный флакон и медленно опустите ручку трубок и убедитесь, что трубки опустились в промывочный флакон и сливную емкость.
 - c Закройте дверцу отсека реагентов.
- 5 Выберите **Next** (далее). Начнется второе промывание.

После промывания

По завершению мойки оставьте в приборе использованную проточную ячейку, промывочный лоток и промывочный флакон с остатками моющего раствора.



ПРИМЕЧАНИЕ

Нормальное положение трубок - в опущенном состоянии. Оставьте неиспользованный моющий раствор в промывочном лотке и промывочном флаконе, чтобы трубки не высохли и воздух не попал в систему.

Завершение работы прибора

Лучше всего, чтобы прибор всегда был включен. Но если его все же нужно выключить, используйте следующий порядок действий для выключения Windows и подготовки линий струйной автоматики.

- 1 Выполните профилактическую мойку. Более подробные сведения см. в разделе «Процедура» на стр. 42.
- 2 Извлеките сливную емкость и соответствующим образом утилизируйте ее содержимое. Установите сливную емкость обратно в отсек реагентов.
- 3 Закройте дверцу отсека реагентов.
- 4 На экране управления прибором нажмите **Shut Down** (завершение работы). Данная команда завершает работу программного обеспечения.
- 5 Переведите выключатель питания в выключенное положение.



ПРИМЕЧАНИЕ

Если прибор выключен, подождите не менее 60 секунд перед повторным включением питания прибора.

[Данная страница намеренно оставлена пустой]

Поиск и устранение неполадок

Введение	50
Комплектация для поиска и устранения неисправностей	51
Выполнение проверки системы	52
Пауза или остановка рабочего цикла	53
Подъем трубок картриджа с реагентами вручную	54
Устранение ошибок настройки рабочего цикла	55
Устранение сбоя при считывании радиочастотного идентификатора	56
Предотвращение перезагрузки во время рабочего цикла	58
Устранение ошибки расхода	59
Выполнение теста проверки объема	60
Устранение ошибок, связанных с температурой в охладителе реагентов	62
Устранение ошибок анализа в Local Run Manager	63
Настройка параметров системы	64



Введение

В данном разделе описаны общие действия по поиску и устранению неисправностей, которые следует выполнить прежде, чем обратиться в службу технической поддержки компании Illumina. Для большинства ошибок на экране отображаются сообщения с инструкциями по их исправлению.

Для доступа к рассмотрению часто задаваемых вопросов по технической части см. страницы по поддержке генетического секвенатора MiSeqDx на сайте Illumina или же войдите в свой аккаунт MyIllumina для просмотра информационных сообщений для поддержки пользователей.

При возникновении проблем, касающихся качества или продуктивности рабочего цикла, обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina. Более подробные сведения см. в разделе «Техническая помощь» на стр. 71.

Как правило, представитель службы технической поддержки компании Illumina запрашивает файлы, касающиеся рабочего цикла, необходимые для поиска и устранения неисправностей. Вы можете использовать функцию Bundle Logs (комплектация) на экране управления файлами, чтобы объединить и сжать файлы, необходимые для поиска и устранения неисправностей. См. раздел «Комплектация для поиска и устранения неисправностей» на стр. 51.

Комплектация для поиска и устранения неисправностей

Функция Bundle Logs (комплектация) позволяет объединить файлы для отправки в службу технической поддержки компании Illumina, где осуществляется поиск и устранение неисправностей. Воспользуйтесь вкладкой Bundle Logs (комплектация) на экране управления файлами, чтобы выбрать группу файлов, которые называются пакетом. Пакет автоматически сжимается.

Функция Bundle Logs (комплектация) за раз группирует файлы рабочего цикла в пакет одного типа. Повторите процедуру комплектации для каждого рабочего цикла и типа пакета, запрашиваемого службой технической поддержки компании Illumina.

- 1 На экране управления файлами выберите вкладку **Bundle Logs** (комплектация).
- 2 Выберите **Browse** (просмотреть), чтобы найти местонахождение папки MiSeqOutput (выходные данные MiSeq).
- 3 Щелкните в синем поле возле рабочего цикла и в синем кружке возле типа пакета, запрашиваемого службой технической поддержки компании Illumina.
- 4 Выберите **Bundle Logs** (комплектация).
Откроется экран объединения файлов с информацией о пакете, включая список отдельных файлов в пакете.
- 5 Выберите **Next** (далее).
- 6 Перейдите в папку, в которой вы хотите сохранить сжатые файлы пакета.
- 7 Выберите **Save** (сохранить).
По завершению объединения файлов снова откроется вкладка Bundle Logs (комплектация).
- 8 Отправьте сжатый пакет в службу технической поддержки компании Illumina.

Выполнение проверки системы

Некоторые проверки системы, например, тест на проверку объема можно выполнить самостоятельно, не обращаясь в службу технической поддержки компании Illumina. Во время теста проверки объема проверяется состояние системы струйной автоматике путем оценки объема расхода, когда пузырьки воздуха проходят возле датчиков. Более подробные сведения см. в разделе «Выполнение теста проверки объема» на стр. 60.

- 1 На главном экране выберите **Manage Instrument** (управление прибором).
- 2 Выберите **System Check** (проверка системы).
- 3 Выберите проверки, которые вы хотели бы выполнить.
- 4 Выберите **Next** (далее).
По завершению на экране появятся результаты проверки.
- 5 [Дополнительно] Выберите **Show Details** (показать детали), чтобы просмотреть сводные результаты в интерфейсе программы.
- 6 [Дополнительно] Выберите **Export Results** (экспортировать результаты), чтобы экспортировать на USB-накопитель результаты в формате *.csv.
- 7 Выберите **Done** (готово).

Пауза или остановка рабочего цикла

Генетический секвенатор MiSeqDx предназначен для выполнения рабочего цикла от начала до конца без вмешательства пользователя. При этом рабочий цикл можно приостановить или прекратить, выполнив действия на экране секвенирования.

Пауза рабочего цикла

При необходимости можно приостановить рабочий цикл во время секвенирования (например, чтобы опорожнить сливную емкость или проверить оставшийся объем во флаконе с буфером SBS (PR2) MiSeqDx), а затем его возобновить.



ВНИМАНИЕ!

Не приостанавливайте рабочий цикл во время образования кластеров или в течение первых пяти циклов секвенирования.

Невозможно возобновить рабочий цикл, приостановленный на этом этапе.

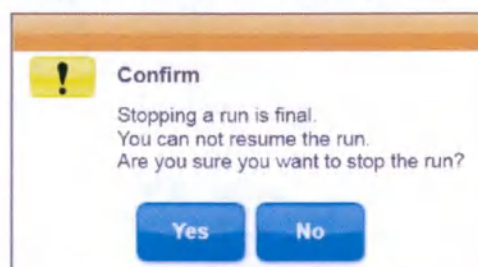
Чтобы приостановить рабочий цикл на экране секвенирования, нажмите **Pause** (пауза). Выполняется текущая команда, после чего рабочий цикл приостанавливается, проточная ячейка переводится в безопасное состояние, а кнопка меняет свою функцию на **Resume** (возобновить). Можно, например, опорожнить сливную емкость. Выберите **Resume** (возобновить) для продолжения рабочего цикла.

Остановка рабочего цикла

При необходимости можно остановить рабочий цикл во время секвенирования (например, в случае неправильной настройки рабочего цикла, низкого качества данных или ошибки аппаратных средств).

Чтобы остановить рабочий цикл на экране секвенирования, нажмите **Stop** (остановка). Если рабочий цикл остановлен, текущая команда не выполняется, а подставка проточной ячейки перемещается в переднее положение. Первичный анализ продолжается до последнего выполненного цикла.

Рисунок 18. Остановка рабочего цикла



Команда остановки рабочего цикла является окончательной. Остановленный рабочий цикл невозможно возобновить. Единственным вариантом продолжения является промывание прибора.

Подъем трубок картриджа с реагентами вручную

Трубки картриджа с реагентами могут не подняться автоматически в случае неожиданного прерывания рабочего цикла или возникновения ошибки во время рабочего цикла. Чтобы извлечь картридж с реагентами, необходимо поднять трубки вручную.

- 1 На главном экране выберите **Perform Wash** (выполнить промывание).
- 2 Нажмите **Raise Sippers** (поднять трубки).
- 3 Извлеките картридж с реагентами.

Устранение ошибок настройки рабочего цикла

В случае неудовлетворительного результата предварительной проверки возле соответствующего элемента появляется красная пиктограмма **X**. При этом на экране появляется сообщение, в котором описывается сама ошибка и способ ее устранения.

Ошибка	Действие
X Flow Rate Measured (измерение расхода)	Откроется экран проверки расхода. Воспользуйтесь выпадающим списком или экранной клавиатурой, чтобы ввести следующее: • Раствор: PR2 • Объем: 250 • Кол-во всасываемой жидкости: 2500 • Кол-во жидкости при дозировании: 2500 Выберите Pump (насос). Если ошибка не исчезает, задайте объем закачивания 500 мкл для буфера SBS (PR2) MiSeqDx, а затем повторите процесс. После закачивания жидкости выберите Restart Check (запустить проверку заново). Если предварительная проверка прошла успешно, кнопка Start Run (запустить рабочий цикл) становится активной. Если результаты проверки снова окажутся неудовлетворительными, установите проточную ячейку заново и убедитесь, что поток не прерывается из-за неправильного расположения. Проверьте отсутствие ворсинок или дефектов на прокладке проточной ячейки.
X Свободное место на диске	Если на диске не хватает места, на экране появляется сообщение с указанием требуемого места. Используйте функцию Manage Files (управление файлами), чтобы очистить необходимое место на компьютере прибора.
X Network Connection Active (сетевое подключение активно)	Убедитесь, что к прибору подключен сетевой кабель. Если сетевое подключение не восстановилось, выберите Reboot (перезагрузить) на экране управления прибором, чтобы перезагрузить программу. Если сетевое подключение так и не восстановилось, выберите Shut Down (завершение работы) на экране управления прибором, а затем выключите прибор с помощью выключателя питания. Подождите не менее 60 секунд, а затем включите прибор и запустите программу.
X Primary Analysis Ready (первичный анализ готов)	Первичный анализ предыдущего рабочего цикла не выполнен. Заданное по умолчанию время выполнения первичного анализа составляет 1 час, при этом на экране отображается обратный отсчет. Можно ждать 1 час или же выбрать Terminate Analysis (завершить анализ). Вторичный анализ прекращается в случае невыполнения любого цикла.

Устранение сбоя при считывании радиочастотного идентификатора

Сбои, связанные с радиочастотным идентификатором, возникают, если:

- ▶ Загруженный компонент не является частью комплекта для проведения диагностики *in vitro*.
- ▶ Загруженный компонент не является частью комплекта, определенного модулем Local Run Manager.
- ▶ Обнаружена техническая неисправность в компоненте, связанная с меткой радиочастотного идентификатора.

Выполните следующие действия для устранения сбоев радиочастотного идентификатора, вызванных технической неисправностью.



ПРИМЕЧАНИЕ

Во время диагностического рабочего цикла допускается 1 сбой при считывании радиочастотного идентификатора. Если невозможно выполнить считывание радиочастотного идентификатора двух расходных материалов, тогда программа не сможет перейти к следующему этапу настройки рабочего цикла. В таком случае следует обратиться в службу технической поддержки компании Illumina.

Проточная ячейка

- 1 Перед тем, как приступить к действиям, обязательно еще раз попробуйте выполнить считывание радиочастотного идентификатора. Для этого откройте, а затем закройте дверцу отсека проточной ячейки.
- 2 Если считывание радиочастотного идентификатора не удастся и во второй раз, нажмите **Get Code** (получить код).
Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina, чтобы получить временный код обхода для радиочастотного идентификатора. Срок действия временного кода истекает через 7 дней.
- 3 Введите временный код с помощью экранной клавиатуры.
- 4 Выберите **Next** (далее).
- 5 Введите следующую информацию:
 - ▶ Номер штрих-кода проточной ячейки, который указан на этикетке контейнера проточной ячейки, непосредственно под штрих-кодом.
 - ▶ Номер проточной ячейки по каталогу
- 6 Выберите **Next** (далее), чтобы перейти на экран загрузки проточной ячейки.
- 7 Выберите **Next** (далее), чтобы перейти к следующему этапу настройки рабочего цикла.

Флакон с буфером SBS (PR2) MiSeqDx

- 1 Перед тем, как приступить к действиям, обязательно еще раз попробуйте выполнить считывание радиочастотного идентификатора. Для этого необходимо поднять и опустить ручку трубок для реагентов.
- 2 Если считывание радиочастотного идентификатора не удастся и во второй раз, нажмите **Get Code** (получить код).
Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina, чтобы получить временный код обхода для радиочастотного идентификатора. Срок действия временного кода истекает через 7 дней.
- 3 Введите временный код с помощью экранной клавиатуры.
- 4 Выберите **Next** (далее).
- 5 Введите следующую информацию:
 - ▶ Номер штрих-кода флакона с буфером SBS (PR2) MiSeqDx, который указан на этикетке флакона, непосредственно под штрих-кодом.
 - ▶ Номер по каталогу флакона с буфером SBS (PR2) MiSeqDx
- 6 Выберите **Next** (далее), чтобы перейти на экран загрузки реагентов.
- 7 Выберите **Next** (далее), чтобы перейти к следующему этапу настройки рабочего цикла.

Картридж с реагентами

- 1 Перед тем, как приступить к действиям, обязательно еще раз попробуйте выполнить считывание радиочастотного идентификатора. Для этого откройте, а затем закройте дверцу отсека охладителя реагентов.
- 2 Если считывание радиочастотного идентификатора не удастся и во второй раз, нажмите **Get Code** (получить код).
Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina, чтобы получить временный код обхода для радиочастотного идентификатора. Срок действия временного кода истекает через 7 дней.
- 3 Введите временный код с помощью экранной клавиатуры.
- 4 Выберите **Next** (далее).
- 5 Введите следующую информацию:
 - ▶ Номер штрих-кода набора реагентов, который указан на этикетке набора, непосредственно под штрих-кодом.
 - ▶ Номер набора реагентов по каталогу
- 6 Выберите **Next** (далее), чтобы вернуться на экран загрузки реагентов.
- 7 Выберите **Next** (далее), чтобы перейти к следующему этапу настройки рабочего цикла.

Предотвращение перезагрузки во время рабочего цикла

Если перезапуск генетического секвенатора MiSeqDx происходит посреди рабочего цикла, это может означать, что ПО Центра обновления Windows в сети настроено на автоматическое обновление (Необходимо выключить этот параметр во время установки). Обратитесь за помощью в местный отдел ИТ, чтобы они отключили автоматическое обновление ОС Windows, которое работает на генетическом секвенаторе MiSeqDx в фоновом режиме.

Устранение ошибки расхода

Расход — это скорость, с которой жидкость протекает по системе подачи (мкл/мин). Он измеряется перед каждым рабочим циклом во время предварительной проверки. Если система не может измерить расход, прокачайте определенный объем жидкости (буфера SBS (PR2) MiSeqDx) через систему перед повторной проверкой расхода.

- 1 Воспользуйтесь выпадающим списком или экранной клавиатурой, чтобы ввести следующее сведения:
 - Раствор: **PR2**
 - Объем: **250 мкл**
 - Кол-во всасываемой жидкости: **2500 мкл/мин**
 - Кол-во жидкости при дозировании: **2500 мкл/мин**
- 2 Выберите Pump (насос).
- 3 По завершению работы насоса выберите **Restart Check** (запустить повторную проверку).
- 4 Если ошибка не исчезает, задайте объем закачивания 500 мкл для буфера SBS (PR2) MiSeqDx, а затем повторите процесс еще раз. Обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina, если и после второй попытки не удалось устранить ошибку.

Выполнение теста проверки объема

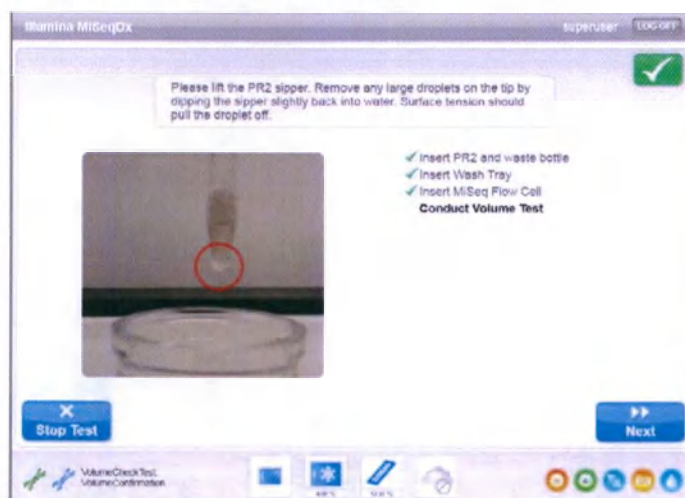
Закупорка линий струйной автоматики может стать причиной недостаточной подачи реагента и негативно отразиться на результатах секвенирования. Если вы подозреваете, что линии струйной автоматики закупорены, выполните проверку объема.

Во время теста проверки объема проверяется состояние системы струйной автоматики путем оценки объема между двумя пузырьками воздуха в момент их прохождения возле датчиков. Для проверки объема необходимо залить лабораторную воду в промывочный лоток и промывочный флакон и установить на место проточную ячейку.

Следуйте подсказкам на экране для выполнения проверки.

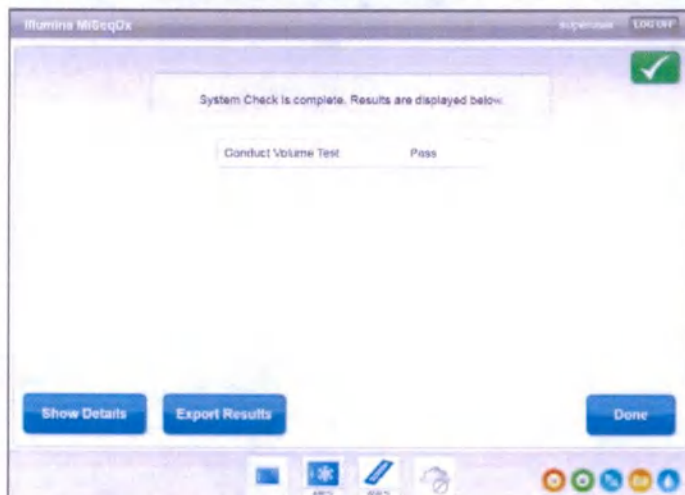
- 1 Убедитесь, что использованная проточная ячейка загружена в прибор.
- 2 На экране управления прибором нажмите **System Check** (проверка системы).
- 3 Выберите **Conduct Volume Test** (провести тест проверки объема), а затем выберите **Next** (далее).
- 4 Залейте во все емкости промывочного лотка по 6 мл лабораторной воды.
- 5 Залейте 350 мл лабораторной воды в промывочный флакон объемом 500 мл.
- 6 Загрузите промывочный лоток и промывочный флакон в прибор.
 - a Откройте дверцу отсека реагентов и дверцу охладителя реагентов, а затем вставьте промывочный лоток в охладитель реагентов до упора. Закройте дверцу охладителя реагентов.
 - b Поднимите ручку трубок, чтобы она зафиксировалась на месте, а затем загрузите промывочный флакон.
 - c Извлеките сливную емкость и соответствующим образом утилизируйте ее содержимое. Установите сливную емкость обратно в отсек реагентов.
 - d Опустите ручку трубок и убедитесь, что трубки опустились в промывочный флакон и сливную емкость.
- 7 Следуя подсказкам на экране, удалите капли с поверхности трубки промывочного флакона следующим образом:
 - a Когда появится соответствующая подсказка, медленно поднимите ручку трубок и проверьте наличие крупной капли воды на трубке промывочного флакона.
 - b Когда появится соответствующая подсказка, медленно опустите ручку трубок до соприкосновения с водой, чтобы с помощью поверхностного натяжения удалить каплю.
 - c Когда появится соответствующая подсказка, медленно поднимите ручку трубок и проверьте наличие крупной капли воды на трубке промывочного флакона.
 - d Когда появится соответствующая подсказка, опустите ручку трубок и убедитесь, что трубки опустились в промывочный флакон и сливную емкость.

Рисунок 19. Удаление капли из трубки



- 8 Выберите Next (далее). Начнется проверка объема. По завершению проверки объема на экране появятся результаты.

Рисунок 20. Результаты проверки объема



Если результаты проверки окажутся неудовлетворительными, выполните профилактическое промывание. См. раздел «Процедура» на стр. 42.

- 9 По завершению профилактического промывания повторите тест проверки объема.

Устранение ошибок, связанных с температурой в охладителе реагентов

Требуемый температурный диапазон охладителя реагентов от 2 °С до 11 °С. Индикаторный датчик указывает температуру в охладителе реагентов. См. раздел «Индикаторы датчиков» на стр. 6.

Если в сообщении об ошибке указывается, что температура в охладителе не соответствует заданному диапазону, обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.

Если температура в охладителе не соответствует допустимым, это может помешать запуску рабочего цикла секвенирования. Если сообщение об ошибке отображается во время рабочего цикла секвенирования, дождитесь завершения рабочего цикла.

Более подробные сведения об охладителе реагентов см. в разделе «Отсек реагентов» на стр. 4.

Устранение ошибок анализа в Local Run Manager

За информацией по поиску и устранению неисправностей, касающейся ошибок анализа, обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina. Документ «Программный модуль Local Run Manager. Справочное руководство к генетическому секвенатору MiSeqDx.» (№ 1000000011880) содержит инструкции по установке очередности анализа.

Настройка параметров системы

В MOS имеется два экрана, на которых можно получить доступ к командам для настройки системы. Обычно параметры системы настраиваются во время установки генетического секвенатора MiSeqDx.

Для использования данной функции пользователь должен обладать правами администратора.

Настройка параметров IP и DNS

Настройте IP-адрес или адреса DNS-серверов в случае изменения в сети или учреждении.

- 1 На главном экране выберите **Manage Instrument** (управление прибором).
- 2 Выберите **System Settings** (параметры системы).
- 3 Выберите один из параметров, чтобы настроить IP-адрес:
 - **Obtain an IP address automatically** (получить IP-адрес автоматически) — выберите этот параметр, чтобы получить IP-адрес с помощью DHCP-сервера.



ПРИМЕЧАНИЕ

Протокол динамической конфигурации узла (DHCP) — это стандартный сетевой протокол, используемый в IP-сетях для динамического распределения параметров конфигурации сети.

- **Use the following IP address** (использовать следующий IP-адрес) — выберите этот параметр, чтобы вручную подключить прибор к другому серверу. Для этого необходимо обратиться к администратору сети за адресом, соответствующим вашему учреждению.
 - Введите IP-адрес. IP-адрес представляет собой серию из 4 наборов цифр, разделенных точками, например, 168.62.20.37.
 - Введите маску подсети, которая является частью сети IP.
 - Введите заданный по умолчанию шлюз, который является маршрутизатором в сети, подключаемой к интернету.
- 4 Выберите один из параметров, чтобы настроить DNS-адрес:
 - **Obtain a DNS address automatically** (получить DNS-адрес автоматически) — считывание DNS-адреса, связанного с IP-адресом.
 - **Use the following DNS addresses** (использовать следующие DNS-адреса) — подключение прибора к серверу, который преобразовывает доменные имена в IP-адреса.
 - Введите предпочтительный DNS-адрес. DNS-адрес — это имя сервера, используемое для преобразования доменных имен в IP-адреса.
 - Введите резервный DNS-адрес. Резервный адрес используется в том случае, когда предпочтительный DNS-адрес не может преобразовать конкретное доменное имя в IP-адрес.
- 5 Выберите **Save and Continue** (сохранить и продолжить).

Настройка параметров прибора и сети

- 1 На главном экране выберите **Manage Instrument** (управление прибором).
- 2 Выберите **System Settings** (параметры системы).
- 3 Выберите **Save and Continue** (сохранить и продолжить), чтобы перейти ко второму экрану.
- 4 **Machine Name** (имя машины) — имя машины, присвоенное компьютеру прибора во время его изготовления. Как правило, нет необходимости менять имя машины. Изменения имени машины, выполненные на этом экране, могут повлиять на соединение и требуют введения имени пользователя и пароля администратора сети.
В выходных данных ПО Local Run Manager имя машины регистрируется как имя прибора.
- 5 Необходимо следующим образом подключить компьютер прибора к домену или рабочей группе.
 - ▶ **For instruments connected to the internet** (для приборов, подключенных к интернету) — выберите **Domain** (домен), а затем введите доменное имя, связанное с подключением к интернету в вашем учреждении.
 - ▶ **For instruments not connected to the internet** (для приборов, не подключенных к интернету) — выберите **Workgroup** (рабочая группа), а затем введите имя рабочей группы.
- 6 Выберите один из следующих параметров **MiSeq Start-Up Options** (параметры запуска MiSeq).
 - ▶ **Kiosk Mode** (полноэкранный режим, рекомендуется) — отображение интерфейса программы управления во весь экран. Программа предназначена для использования в полноэкранном режиме.
 - ▶ **Windows Mode** (режим Windows) — доступ к Windows на компьютере прибора. Взаимодействие с интерфейсом программы, например, в данном режиме можно изменить расположение кнопки.

[Данная страница намеренно оставлена пустой]

Папка выходных данных

Папки рабочего цикла	68
----------------------------	----



Папки рабочего цикла

Во время каждого рабочего цикла генетический секвенатор MiSeqDx создает 3 папки, у каждой из которых есть свое назначение:

- ▶ **D:\Illumina\MiSeqTemp** — после начала рабочего цикла на локальном диске компьютера прибора создается временная папка рабочего цикла, которая используется как рабочая область для MOS и RTA. Нет необходимости заходить в папку Temp (временная). Содержимое этой папки удаляется спустя 7 дней.
- ▶ **D:\Illumina\MiSeqOutput** — RTA копирует файлы из папки Temp (временная) в папку Output (выходные данные). При создании файлов первичного анализа RTA копирует файлы обратно в папку Temp (временная) и заполняет папку Analysis (анализ). Изображения с фокусировкой и эскизы не копируются в папку Analysis (анализ).
- ▶ **D:\Illumina\MiSeqAnalysis** — по завершению первичного анализа ПО Local Run Manager получает доступ к папке Analysis (анализ) для выполнения вторичного анализа. Все файлы, записанные в папке Analysis (анализ), копируются в папку Output (выходные данные).

Присвоение имени корневой папке

По имени корневой папки рабочего цикла можно определить дату выполнения рабочего цикла, номер прибора и использованную проточную ячейку. Для любого одного рабочего цикла каждая его папка имеет одинаковое имя корневой папки.

По умолчанию, для имени папки используется следующий формат:

ГГММДД_<Номер прибора>_<Номер рабочего цикла>_A<Штрих-код проточной ячейки>

Номер рабочего цикла увеличивается на 1 при каждом выполнении рабочего цикла на заданном приборе.

Предметный указатель

D

DNS-адрес 64

I

IP-адрес 64

A

антивирусное ПО 9

Б

буфер SBS (PR2) MiSeqDx, загрузка 30

В

включение прибора 12

выключатель питания 12

Д

датчик дверцы проточной ячейки 6

длительность рабочего цикла 21

документация 71

доменное имя 64-65

З

завершение работы прибора 40, 47

картридж 31

буфер SBS (PR2) MiSeqDx 30

загрузка реагентов

запуск рабочего цикла 14

защелка проточной ячейки 3

И

имя пользователя 12

имя рабочей группы 65

индикаторы датчиков 6

индикаторы действий 5

интенсивность 33

К

компоненты проточной ячейки 3

оптический модуль 2

отсек проточной ячейки 2-3

отсек реагентов 2, 4

контроль рабочего цикла 32

Л

лист образца 55

М

мойка

параметры мойки, выполняемой после рабочего цикла 13, 17

подготовка к завершению работы 47

подготовка к простоя 45

после рабочего цикла 34

преимущества 34, 40

профилактическая 13, 17, 40, 42

режим ожидания 40, 45

мойка перед простоем 45

мойка после рабочего цикла 34, 40

О

оптический модуль 2

остановка рабочего цикла 53

отсек проточной ячейки 2-3

отсек реагентов 2, 4

охладитель реагентов, температура 6

П

папки рабочего цикла

временная, выходные данные, анализ 68

присвоение имени 68

параметры рабочего цикла 13-17

параметры сети 64

параметры системы 64-65

пароль 12

пауза в рабочем цикле 53

перезагрузка 10

перезагрузка в режим исследования 10

пиктограмма уведомления о состоянии 6

пиктограммы

датчики 6

индикаторы действий 6

ошибки и предупреждения 6

уведомление о состоянии 6

плотность кластеров 32

ПО

Local Run Manager 5, 7

анализ в реальном времени 5

антивирусное 9

в приборе 5

длительность рабочего цикла 21

инициализация 12

проверка места на диске 8

рабочее ПО MiSeqDx 5

ПО Local Run Manager 5, 7

ПО анализа в реальном времени 5

папка рабочего цикла 68

создание образца 33

поддержка клиентов 71

поиск и устранение неполадок

комплектация 51

ошибки настройки рабочего цикла 55

расход 59

РЧ идентификатор 56

струйная автоматика 60

файлы рабочего цикла для 50

показатели качества 32-33

полноэкранный режим 65

полосовой фильтр (PF) 33

помощь, техническая 71

проверка места

на диске 8

недостаточно места на диске 55

проверка объема 60

продолжительность считывания 21

простой прибора 45

проточная ячейка 3

загрузка 28

общие сведения 3

чистка 26

профилактическая мойка 40, 42

Р

рабочее ПО MiSeq 5
 рабочий процесс
 длительность рабочего цикла 21
 расход, поиск и устранение неисправностей 59
 расходные материалы,
 лабораторная вода 18
 поставляемые компанией Illumina 18
 приобретаемые пользователем 18
 расходные материалы, приобретаемые пользователем 18
 реагенты,
 набор 18
 режим исследования 10
 режим окна 65
 рекомендации по использованию лабораторной воды 18
 ручка трубок 4
 РЧ идентификатор
 картридж с реагентами 31
 поиск и устранение неисправностей 56
 проточная ячейка 28
 буфер SBS (PR2) MiSeqDx 30

С

сетевое подключение 55
 сливная емкость 4
 служба контроля Illumina Proactive 15
 создание образца 33
 состояние прибора 15
 средство просмотра анализа секвенирования 32
 струйная автоматика
 мойка 42, 45
 поиск и устранение неисправностей 59-60

Т

техническая помощь 71

У

уведомления по эл. почте 16
 управление доменом прибора 65
 IP-адрес и DNS-адрес 64
 доменное имя 64
 имя машины 65
 параметры запуска 65
 параметры системы 64
 рабочая группа 65

Ф

формирование кластеров 33

Ц

циклы секвенирования 33

Ч

число циклов за одно считывание 21

Э

экран секвенирования 32

Техническая помощь

Для получения технической помощи обратитесь в службу технической поддержки компании Illumina.

Таблица 3. Общие контактные данные компании Illumina

Веб-сайт	www.illumina.com
Эл. почта	techsupport@illumina.com

Таблица 4. Номера телефонов службы поддержки клиентов компании Illumina

Регион	Контактный номер	Регион	Контактный номер
Северная Америка	1.800.809.4566	Италия	800.874909
Австралия	1.800.775.688	Нидерланды	0800.0223859
Австрия	0800.296575	Новая Зеландия	0800.451.650
Бельгия	0800.81102	Норвегия	800.16836
Дания	80882346	Испания	900.812168
Финляндия	0800.918363	Швеция	020790181
Франция	0800.911850	Швейцария	0800.563118
Германия	0800.180.8994	Великобритания	0800.917.0041
Ирландия	1.800.812949	Другие страны	+44.1799.534000

Паспорта безопасности

Паспорта безопасности (SDS) доступны на веб-сайте компании Illumina: support.illumina.com/sds.html.

Документация на изделие

Документацию на изделие в формате PDF можно скачать с веб-сайта компании Illumina. Зайдите на support.illumina.com, выберите изделие, а затем щелкните **Documentation & Literature** (документация и литература).



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A. (США)
+1-800-809-ILMN (4566)
+1-858-202-4566 (за пределами Северной Америки)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands (Нидерланды)

Спонсор в Австралии
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, Victoria 3000
Australia (Австралия)



Программный модуль Local Run Manager

Справочное руководство к генетическому секвенатору MiSeqDx

Общие сведения о Local Run Manager	3
Общие сведения о главной странице	4
Административные настройки и задачи	7
Общие сведения о рабочем процессе	12
История изменений.....	17
Техническая поддержка.....	17

Настоящий документ и его содержимое защищены правом собственности корпорации Illumina, Inc. и ее дочерних компаний (Illumina) и предназначены исключительно для использования по договору с ее заказчиками в связи с использованием продуктов, описанных в настоящем документе, и ни для каких других целей. Распространение или передача настоящего документа и его информации любым способом для любых других целей без письменного согласия корпорации Illumina запрещены. Настоящим документом корпорация Illumina не передает права ни на свои патенты, товарные знаки, авторские права или права общего права, ни на аналогичные права каких-либо третьих лиц.

Для обеспечения правильного и безопасного использования продукта(ов), инструкции, изложенные в данном документе, должны строго и четко соблюдаться квалифицированным и должным образом обученным персоналом. Перед использованием таких изделий обязательно следует ознакомиться со всей информацией, представленной в настоящем документе.

НЕПОЛНОЕ ОЗНАКОМЛЕНИЕ С ИНФОРМАЦИЕЙ И НЕТОЧНОЕ СОБЛЮДЕНИЕ ВСЕХ УКАЗАННЫХ ИНСТРУКЦИЙ МОЖЕТ ПРИВЕСТИ К ПОВРЕЖДЕНИЮ ИЗДЕЛИЙ/ПРОДУКТОВ, ТРАВМИРОВАНИЮ ПЕРСОНАЛА, В ТОМ ЧИСЛЕ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ И ДРУГИХ ЛИЦ, А ТАК ЖЕ К НАНЕСЕНИЮ УЩЕРБА ИМУЩЕСТВУ.

КОМПАНИЯ ILLUMINA НЕ ПРИНИМАЕТ НА СЕБЯ НИКАКОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА НЕПРАВИЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОПИСАННЫХ ИЗДЕЛИЙ/ПРОДУКТОВ, ИХ КОМПОНЕНТОВ ИЛИ ПРОГРАММНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ.

Авторское право © 2021 Компания Illumina, Inc. Все права защищены.

Illumina, генетический секвенатор MiSeqDx и дизайн потоковых баз являются зарегистрированными или находящимися на рассмотрении товарными знаками Illumina, Inc. и/или ее филиалов в США и/или других странах. Все остальные наименования, логотипы и прочие торговые марки являются собственностью соответствующих владельцев.

Общие сведения о Local Run Manager

Программное обеспечение Local Run Manager - это встроенное в прибор решение, предназначенное для создания прогона, контроля состояния, анализа данных секвенирования и просмотра результатов.

Характерные особенности Local Run Manager:

- ▶ запускается с компьютера прибора и совмещается с программным обеспечением управления прибором;
- ▶ регистрирует образцы, подлежащие секвенированию;
- ▶ обеспечивает специфический для каждого модуля анализа интерфейс установки прогона;
- ▶ автоматически выполняет анализ данных с прибора после завершения прогона секвенирования;
- ▶ выполняет последовательность этапов анализа, характерную для выбранного модуля анализа;
- ▶ по завершении анализа отображает количественные показатели анализа;

Визуализация Local Run Manager (Local Run Manager)

Интерфейс Local Run Manager визуализируется через веб-браузер. На операционной системе Windows 7 поддерживается веб-браузер Chromium версии 43.0.2357. Соединение устанавливается одним из описанных ниже способов:

- ▶ Открыть веб-браузер на компьютере с доступом к сети, к которой подключен прибор, и установить соединение, используя IP-адрес или название прибора. Например, **<http://myinstrument>**.
- ▶ Для визуализации интерфейса Local Run Manager на мониторе прибора, открыть веб-браузер и ввести **<http://localhost>** в адресной строке.

Секвенирование во время анализа

Вычислительные ресурсы прибора MiSeqDx рассчитаны только на секвенирование или проведение анализа.

Если новый рабочий цикл секвенирования начинается на генетическом секвенаторе MiSeqDx еще до завершения вторичного анализа предыдущего рабочего цикла, появится диалоговое окно подтверждения. После подтверждения начала нового рабочего цикла секвенирования, ПО управления местным рабочим циклом приостанавливает вторичный анализ предыдущего рабочего цикла до тех пор, пока не будет выполнен новый рабочий цикл секвенирования.

По завершению нового рабочего цикла секвенирования автоматически запустится (с самого начала) вторичный анализ предыдущего рабочего цикла.

Пароли пользователей

Для доступа к интерфейсу Local Run Manager необходимо зарегистрироваться в системе с допустимым именем и паролем пользователя. Учетные данные пользователя присваивает только пользователь-администратор.

При приближении даты окончания срока действия Вашего пароля, сверху экрана появляется сообщение, напоминающее о необходимости сменить пароль.

Моя учетная запись

Под своей учетной записью Вы можете видеть свое имя пользователя, назначенные Вам права, разрешения и смену пароля.

После первого входа в систему, можно изменить существующий пароль в любое время в окне «Моя учетная запись».

Текущий пароль отображается в зашифрованном виде. Поэтому, для смены пароля на новый необходимо знать свой текущий пароль. Для забытых паролей требуется помощь системного администратора или пользователя-администратора.

Состояния пароля

Возможные состояния пароля:

- ▶ **временный пароль** - при создании пользователем-администратором пароля пользователя, пользователь-администратор присваивает новому пользователю временный пароль;
- ▶ **пароль пользователя** - при первом доступе новому пользователю предлагается изменить временный пароль в окне входа в систему на назначенный пользователем пароль;
- ▶ **забытый пароль** - в случае, если пользователь забыл пароль, пользователь-администратор может присвоить другой временный пароль, который можно изменить при следующем доступе;
- ▶ **использованный пароль** - любой пользователь не может повторно использовать пароль в течение пяти циклов смены пароля;
- ▶ **запрет доступа пользователя** - количество попыток входа с неверным паролем задается пользователем-администратором. В случае превышения пользователем количества допустимых попыток учетная запись пользователя блокируется. Разблокировать учетную запись или присвоить временный пароль может только пользователь-администратор.

Для смены пароля

- 1 На панели навигации вверху интерфейса выберите пиктограмму  «Пользователь» (User) рядом с Вашим именем.
- 2 Выберите «Моя учетная запись» (My Account) из выпадающего списка.
- 3 Выберите пиктограмму  «Редактировать» (Edit) в разделе «Пароль».
- 4 В поле «Старый пароль», введите свой старый пароль.
- 5 В поле «Новый пароль», введите новый пароль.
- 6 В поле «Подтвердить новый пароль», введите повторно новый пароль.
- 7 Выберите «Сохранить» (Save).

Общие сведения о главной странице

После регистрации в программном модуле Local Run Manager открывается главная страница. На главной странице можно произвести следующие операции:

- ▶ отслеживать статус процесса секвенирования и анализа;
- ▶ сортировать и фильтровать прогоны;
- ▶ создавать и редактировать прогоны;
- ▶ прерывать анализ или повторно ставить его в очередь;
- ▶ просматривать статус процесса анализа;
- ▶ скрывать прогоны.

На главной странице представлены в виде списка все прогоны, выполненные на приборе, по 10 прогонов на странице. С помощью стрелок навигации внизу списка можно просматривать страницы.

Для каждого прогона в списке указано его название, модуль анализа, статус прогона и дата последнего изменения прогона. Для сортировки прогонов выберите наименования столбцов.

- ▶ Название/идентификационный номер (ID) прогона - указывается присвоенное название прогона и предоставляется возможность перехода по ссылке на страницы результатов прогонов.
- ▶ Модуль - указывается модуль анализа, назначенный прогону.
- ▶ Статус - указывается статус прогона и имеется строка состояния выполнения. Дополнительную информацию см. *на стр. 15 «Возможные состояния прогонов».*

- **Последнее изменение** - указана дата и время последнего изменения прогона или сеанса анализа. По умолчанию страница «Активные прогоны» (Active Runs) сортируется этим столбцом.

Пиктограммы «Local Run Manager»

Для выполнения различных операций в «Local Run Manager» используются следующие пиктограммы:

Пиктограмма	Наименование	Описание
	Скопировать в буфер	В буфере обмена компьютера создаются копии.
	Главная страница	Открывается главная страница.
	Редактировать	Позволяет редактировать параметры прогона перед секвенированием.
	Экспорт	Команда для экспорта данных.
	Заблокировано	Указывает на то, что прогон проходит процесс секвенирования или, что другой пользователь редактирует в данный момент прогон в другом сеансе браузера.
	Дополнительные параметры	Открывает дополнительные параметры, доступные для ввода с главной страницы.
	Возврат очередь	Повторно запускает анализ выбранного прогона.
	Поиск	Открывает поле поиска для поиска названий прогонов и идентификационных номеров (ID) образцов.
	Система	Открывает системное меню. Доступные позиции зависят от полномочий пользователя.
	Пользователь	Открывает меню учетной записи пользователя.

Страница «Активные прогоны» (Active Runs)

Страница активных прогонов открывается с главной страницы. В верхней части страницы активных прогонов в сводных данных об активных прогонах указано количество прогонов в каждой из следующих категорий статусов прогонов. Для фильтрации активных прогонов по состоянию необходимо выбрать количество.

- **Готов** - указывает на готовность прогона к секвенированию.
- **Выполняется** - указывает на процесс выполнения секвенирования или анализа данных.
- **Остановлен или не удалось выполнить** - указывает на то, что анализ был остановлен вручную или что не удалось выполнить анализ.
- **Завершен** - указывает на успешное завершение анализа.
- **Итого** - общее количество прогонов на странице «Активные прогоны» (Active Runs).

Фильтр отображения прогонов

1. Выбрать категорию статуса прогона в сводных данных об активных прогонах, чтобы отфильтровать страницу активных прогонов следующим образом.

Готов - в списке должны отображаться только прогоны, готовые для секвенирования.

Выполняется - в списке должны отображаться только обрабатываемые в данный момент прогоны.

Остановлен или не удалось выполнить - в списке должны отображаться только прогоны, анализ которых был остановлен или который не удалось выполнить.

Завершен - в списке должны отображаться только прогоны, анализ которых был завершен.

Итого - сбрасывает фильтры, и отображаются все активные прогоны.

Скрытие и восстановление прогонов

- 1 На странице активных прогонов выберите пиктограмму  «Дополнительные параметры» (More Options), а затем выберите  «Скрыть» (Hide).
- 2 При запросе подтверждения перемещения, выберите «Скрыть» (Hide). Прогон перемещается на страницу «Скрытые прогоны» (Hidden Runs).
- 3 Для отображения страницы «Скрытые прогоны» (Hidden Runs) выберите стрелку выпадающего списка и затем выберите «Скрытые прогоны» (Hidden Runs).
- 4 Для восстановления со страницы скрытых прогонов выберите пиктограмму  «Восстановить» (Restore).
- 5 При запросе подтверждения перемещения, выберите «Восстановить» (Restore). Прогон будет восстановлен на страницу «Активные прогоны» (Active Runs).
- 6 Для отображения страницы «Активные прогоны» (Active Runs) выберите стрелку выпадающего списка и затем выберите «Активные прогоны» (Active Runs).

Поиск прогонов или образцов

- 1 На панели навигации главной страницы выберите пиктограмму  «Поиск» (Search).
- 2 В поле поиска введите название прогона или идентификационный номер (ID) образца. По мере ввода данных появляется список возможных совпадений, которые помогут вам в поиске.
- 3 Выберите совпадение из списка или нажмите **Enter**.
 - Если поиск осуществляется по названию прогона, открывается вкладка «Обзор прогонов» (Run Overview).
 - Если поиск осуществляется по идентификационному номеру (ID) образца, открывается вкладка «Образцы и результаты» (Samples and Results).
Дополнительную информацию см. на стр. 14 «Визуализация данных о прогонах и образцах».

Редактирование прогона

- 1 На странице активных прогонов выберите пиктограмму  «Дополнительные параметры» (More Options) рядом с именем прогона, который Вы хотите редактировать.
- 2 Выберите  «Редактировать» (Edit).
- 3 При запросе подтверждения действия, выберите «Продолжить» (Continue).
- 4 Выполните необходимое редактирование прогона.
- 5 По завершении выберите «Сохранить прогон» (Save Run).
На странице активных прогонов для данного прогона обновится дата последнего изменения.

Остановка анализа

- 1 На странице активных прогонов выберите пиктограмму  «Дополнительные параметры» (More Options) рядом с именем прогона, который Вы хотите остановить.
- 2 Выберите «Остановить» (Stop).
Команда остановка появится для прогонов, находящихся либо в состоянии «Очередь на анализ» (Analysis Queue), либо «Выполнение анализа» (Analysis Running).
- 3 При запросе подтверждения, выберите «Продолжить» (Continue).
Статус прогона изменится на «Выполняется остановка анализа» (Stopping Analysis) или «Анализ остановлен» (Analysis Stopped) в зависимости от состояния прогона. Прогон, анализ которого был прерван, может быть повторно поставлен в очередь для выполнения анализа позднее.

Возврат анализа в очередь

Анализ можно повторно поставить в очередь после того, как он был остановлен, если анализ оказался неудачным или если Вы хотите повторно проанализировать прогон с другими настройками. Осуществить возврат анализа в очередь можно с главной страницы Local Run Manager или с вкладки «Образцы и результаты» (Sample and Results). В случае получения сообщения «Папка прогона не найдена» (Run Folder Not Found), необходимо переместить или скопировать прогон обратно в папку D:\Illumina\MiSeqAnalysis.

Возврат анализа в очередь со страницы «Активные прогоны» (Active Runs)

- 1 На странице активных прогонов выберите пиктограмму  «Дополнительные параметры» (More Options) рядом с именем прогона, который Вы хотите повторно поставить в очередь.
- 2 Выберите  «Возврат в очередь» (Requeue).
- 3 При поступлении запроса, выберите одну из опций:
 - ▶ Для изменения параметров анализа выберите «Настройка редактирования» (Edit Setup). На странице «Возврат анализа в очередь» (Requeue Analysis) измените желаемые настройки, а затем выберите «Возврат анализа в очередь» (Requeue Analysis).
 - 2 Выберите «Возврат в очередь» (Requeue). Анализ запустится на основании текущих параметров анализа.

Возврат анализа в очередь со страницы результатов

- 1 Выберите имя прогона на странице «Активные прогоны» (Active Runs).
- 2 Выберите вкладку «Образцы и результаты» (Samples and Results).
- 3 Выберите  «Возврат анализа в очередь» (Requeue Analysis).
- 4 При поступлении запроса, выберите одну из опций:
 - ▶ Для изменения параметров анализа выберите «Настройка редактирования» (Edit Setup). На странице «Возврат анализа в очередь» (Requeue Analysis) измените желаемые настройки, а затем выберите «Возврат анализа в очередь» (Requeue Analysis).
 - 2 Выберите «Возврат в очередь» (Requeue). Анализ запустится на основании текущих параметров анализа.

Административные настройки и задачи

Права пользователя-администратора распространяются на следующие настройки и задачи:

- ▶ **управление учетными записями пользователей** - добавляет пользователей, назначает права и устанавливает пароли;
- ▶ **редактирование параметров настройки системы MOS** - разрешает редактировать операционное программное обеспечение MiSeq (MOS) с помощью пиктограммы управления прибором на главном экране генетического секвенатора MiSeqDx;
- ▶ **управление параметрами настройки системы Local Run Manager** - устанавливает параметры безопасности системы, интервалы обслуживания и учетные записи служб;
- ▶ **просмотр контрольных журналов** - контролирует частоту доступа и активность пользователей.

Полномочия на выполнение указанных ниже операций настраиваются в разделе управления пользователями:

- ▶ **перезагрузка в режим research use only** - разрешает команде исследовательского режима выполнить перезагрузку для перехода системного ПО в исследовательский режим (RUO);
- ▶ **настройки модуля редактирования** - разрешает загрузить все файлы манифеста для использования их со всеми прогонами в конкретном модуле анализа;
- ▶ **возврат анализа в очередь** - разрешает редактирование параметров с последующим повторным проведением анализа. См. «Возврат анализа в очередь» на стр. 7;

- **минимизация MOS и доступ компьютера** - позволяет сократить до минимума windows-команды для доступа к операционной системе прибора и любой папке на компьютере прибора при работе ПО управления прибором в полноэкранном режиме.

Управление пользователями

Все учетные записи пользователей перечислены на странице управления пользователями, которая включает в себя имя, фамилию и учетное имя пользователя для каждой учетной записи. В рамках информации о каждой учетной записи устанавливается право и соответствующие разрешения. Возможно два вида прав, либо администратор, либо пользователь.

- **Право администратора** - Права администратора подразумевают по умолчанию полный пакет полномочий.
- **Право пользователя** - Права пользователя настраиваются на основании набора возможных полномочий. Независимо от настройки полномочий все пользователи могут создавать прогоны.

Страница управления пользователями доступна только пользователю-администратору.

Полномочия пользователя

Полномочие	Описание	Право администратора	Право пользователя
Добавить наборы подготовки библиотек	Данная функция не активирована в ПО	Разрешено	Разрешено, если выбрано
Редактировать параметры настройки системы MOS	Редактирование параметров настройки системы MOS на генетическом секвенаторе MiSeqDx	Разрешено	Не разрешено
Редактировать параметры настройки системы Local Run Manager	Установка параметров безопасности, обслуживания и учетных записей служб	Разрешено	Не разрешено
Редактировать настройки модуля	Загрузка файлов описаний для модулей анализа	Разрешено	Разрешено, если выбрано
Управлять учетными записями пользователя	Создание и редактирование учетных записей пользователя	Разрешено	Не разрешено
Минимизация MOS и доступ компьютера	Доступ к компьютеру прибора в полноэкранном режиме	Разрешено	Разрешено, если выбрано
Возврат анализа в очередь	Повторный анализ прогонов; редактирование параметров анализа	Разрешено	Разрешено, если выбрано
Перезагрузка в исследовательский режим Research Use Only	Переход ПО прибора в режим RUO	Разрешено	Разрешено, если выбрано
Просмотр контрольных журналов	Просмотр, установка фильтра и экспорт контрольных журналов	Разрешено	Не разрешено

Создание нового пользователя

- 1 На панели навигации главной страницы Local Run Manager выберите пиктограмму «Система» (System), а затем выберите «Управление пользователями» (User Management).
- 2 На странице управления пользователями выберите «Создать пользователя» (Create User).
- В диалоговом окне «Создать нового пользователя» (Create New User) введите имя и фамилию нового пользователя.
- 4 В поле «Имя пользователя» (User Name), введите имя пользователя. Имена пользователей не должны повторяться и не могут использоваться повторно или редактироваться позднее.
- 5 В поле «Новый пароль» (New Password), введите временный пароль. Временные пароли не сохраняются в истории паролей и могут использоваться повторно.
- 6 В поле «Подтвердить новый пароль» (Confirm Password), введите повторно временный пароль.
- 7 При выборе права «Администратора» (Admin) или «Пользователя» (User) следует переключить на выбираемую опцию.

- 8 Выберите полномочия пользователя исходя из указанного права пользователя.
- 9 Выберите «Создать пользователя» (Create User).

Смена пароля пользователя

- 1 На панели навигации главной страницы выберите пиктограмму системы , а затем выберите «Управление пользователями» (User Management).
- 2 Найдите имя пользователя, которое Вы хотите редактировать, и выберите пиктограмму  «Редактировать» (Edit).
- 3 В поле «Новый пароль» (New Password), введите временный пароль.
Временные пароли не сохраняются в истории паролей и могут использоваться повторно.
- 4 В поле «Подтвердить новый пароль» (Confirm Password), введите повторно временный пароль.
- 5 Выберите «Обновить пользователя» (Update User).

Разблокировка пароля пользователя

- 1 На панели навигации главной страницы зайдите в меню «Инструменты» (Tools), и выберите «Управление пользователями» (User Management).
- 2 Найдите имя пользователя, которое Вы хотите редактировать, и выберите пиктограмму  «Редактировать» (Edit).
- 3 В диалоговом окне «Редактировать пользователя» (Edit User) выберите  «Разблокировать пользователя» (Unlock User).
- 4 В поле «Новый пароль» (New Password), введите временный пароль.
- 5 В поле «Подтвердить новый пароль» (Confirm Password), введите повторно временный пароль.
- 6 Выберите «Обновить пользователя» (Update User).

Изменение полномочий пользователя

- 1 На панели навигации главной страницы выберите пиктограмму системы , а затем выберите «Управление пользователями» (User Management).
- 2 Найдите имя пользователя, которое Вы хотите редактировать, и выберите пиктограмму  «Редактировать» (Edit).
- 3 Для изменения права «Администратора» (Admin) или «Пользователя» (User) следует переключить на выбираемую опцию.
- 4 Выберите полномочия пользователя исходя из указанного права пользователя.
- 5 Выберите «Обновить пользователя» (Update User).

Удаление пользователя

- 1 На панели навигации главной страницы выберите пиктограмму системы , а затем выберите «Управление пользователями» (User Management).
- 2 Найдите имя пользователя, которое Вы хотите редактировать, и выберите пиктограмму  «Редактировать» (Edit).
- 3 В диалоговом окне «Создать нового пользователя» (Create New User) выберите «Удалить пользователя» (Delete User).
После удаления пользователя создание учетной записи с таким именем снова будет невозможно.
- 4 При запросе подтверждения удаления пользователя, выберите «Удалить» (Delete).

Параметры настройки системы

Параметры настройки системы - это глобальные параметры безопасности пользователя и автоматического обслуживания данных.

- Настройки безопасности пользователя включают в себя срок действия пароля, максимальное количество попыток входа в систему и длительность периода бездействия.

- ▶ Настройки обслуживания данных включают в себя автоматическую очистку папок неактивных прогонов и частоту резервного копирования базы данных, а также команду немедленного резервного копирования базы данных.
- ▶ Создание учетных записей службы анализа и служб заданий для Windows, если папка выходного прогона находится в сетевом пути. По умолчанию задана локальная системная учетная запись.

Страница параметров настройки системы доступна только пользователю-администратору.

Настройка параметров безопасности системы

- 1 На панели навигации главной страницы выберите пиктограмму системы , а затем выберите «Параметры настройки системы» (System Settings).
- 2 Выберите вкладку «Безопасность» (Security).
- 3 Укажите количество дней до истечения срока действия пароля и необходимости его замены.
- 4 Укажите количество дней до истечения срока действия пароля, в течение которых пользователю делается напоминание о необходимости смены пароля.
- 5 Укажите максимальное количество попыток входа в систему пользователем при указании неверных учетных данных до блокировки его входа в систему.
- 6 Укажите количество минут, в течение которых система может бездействовать до автоматического выхода пользователя из системы.
- 7 Выберите «Сохранить» (Save).

Настройка параметров обслуживания системы

- 1 На панели навигации главной страницы выберите пиктограмму системы , а затем выберите «Параметры настройки системы» (System Settings).
- 2 Выберите вкладку «Обслуживание» (Maintenance).
- 3 Для включения автоматического удаления неактивных локальных папок прогонов, установите флажок «Включить автоматическое удаление» (Enable Automatic Deletion).
При включении система удаляет неактивные папки из папки анализа по умолчанию на приборе по истечении указанного времени.
- 4 В случае установки флажка «Включить автоматическое удаление» (Enable Automatic Deletion), укажите количество дней бездействия до активации команды автоматического удаления.
- 5 Для указания места хранения резервной копии базы данных, введите предпочтительный путь к местоположению резервных копий.
- 6 В поле «Период резервного копирования» (Backup Period) введите количество дней между каждым резервным копированием.
- 7 Для выполнения немедленного резервного копирования выберите «Создать резервную копию сейчас» (Backup Now).
- 8 Выберите «Сохранить» (Save).

Настройка учетных записей служб системы

- 1 На панели навигации главной страницы выберите пиктограмму системы , а затем выберите «Параметры настройки системы» (System Settings).
- 2 Выберите вкладку «Учетные записи служб» (Service Accounts).
- 3 Для включения учетных записей Windows службы анализа и службы заданий выберите «Учетную запись Windows» (Windows Account).
- 4 В поле «Имя пользователя» (User Name), введите имя пользователя.
- 5 В поле «Пароль» (Password), введите пароль.
- 6 Выберите «Сохранить» (Save).

Параметры настройки модуля

На странице настройки параметров модуля на левой панели навигации представлен список установленных модулей анализа. При выборе названия каждого модуля анализа открывается страница с информацией о версии модуля и датой последнего изменения.

Контрольные дорожки

В контрольных дорожках регистрируется информация об определенных действиях, таких как доступ пользователя, изменения профиля пользователя и изменения параметров системы, прогона или анализа. Для каждой регистрации в контрольной дорожке вносится следующая информация:

- ▶ Когда, в виде даты в формате год/месяц/день и времени в 24-часовом формате.
- ▶ Кто, в виде имени пользователя, выполнившего действие.
- ▶ Что, в виде краткого заранее установленного описания выполненного действия.
- ▶ Затрагиваемый объект, в виде 4 категорий затрагиваемого объекта: Пользователя, Прогона, Анализа и Системы.
- ▶ Для сортировки списков контрольных дорожек, выберите заголовок любого столбца для сортировки по возрастанию или по убыванию.

Страница контрольных журналов доступна только пользователю-администратору.

Установка фильтра контрольных дорожек

- 1 На панели навигации главной страницы зайдите в меню «Инструменты» (Tools), и выберите «Контрольные дорожки» (Audit Trails).
- 2 На странице контрольных дорожек выберите пиктограмму  «Фильтр» (Filter).

Примечание

Фильтры можно применить к ранее отфильтрованным результатам для большего уточнения списка. Для применения фильтра ко всей базе данных контрольных дорожек прежде всего необходимо сбросить предыдущие фильтры.

Фильтр по дате

- 1 Выберите пиктограмму  «Календарь» (Calendar) и затем дату «От» (From).
- 2 Выберите пиктограмму  «Календарь» (Calendar) и затем дату «До» (To).
- 3 Выберите «Фильтр» (Filter).

Фильтр по имени пользователя

- 1 В поле «Кто» (Who), введите имя пользователя.
Ввести можно любую часть имени пользователя. Звездочки (*) ставить не нужно.
- 2 Выберите «Фильтр» (Filter).

Фильтр по действиям

- 1 В поле «Что» (What), введите название действия.
Ввести можно любую часть названия. Звездочки (*) ставить не нужно.
- 2 Выберите «Фильтр» (Filter).

Фильтр по описанию затрагиваемого объекта

- 1 В текстовом поле затрагиваемого объекта введите любую часть описания затрагиваемого объекта.
Этим описанием может быть, например, название прогона, имя пользователя, название модуля анализа или название отчета. Ввести можно любую часть названия. Звездочки (*) ставить не нужно.

2 Выберите «Фильтр» (Filter).

Фильтр по категории затрагиваемого объекта

1 Для установки фильтра по категории затрагиваемого объекта выберите пиктограмму ? «Категория» (Category) в поле затрагиваемого объекта и затем выберите один из указанных ниже вариантов:

 «Пользователь» (User) - Фильтрует список, чтобы показать действия пользователя и действия аутентификации пользователя.

 «Прогон» (Run) - Фильтрует список, чтобы показать изменения параметров прогона и статуса прогона

 «Анализ» (Analysis) - Фильтрует список, чтобы показать изменения параметров анализа и статуса анализа.

 «Система» (System) - Фильтрует список, чтобы показать действия на уровне системы, такие как загрузки файлов, обслуживание системы или настройка параметров безопасности.

2 Выберите «Фильтр» (Filter).

Экспорт контрольных журналов

1 На панели навигации главной страницы зайдите в меню «Инструменты» (Tools), и выберите «Контрольные дорожки» (Audit Trails).

2 На странице контрольных дорожек выберите пиктограмму T «Фильтр» (Фильтр).

3 Примените предпочтительные фильтры.

4 Выберите пиктограмму  «Экспорт» (Export).

Программа формирует отчет в формате PDF, который включает в себя имя пользователя, дату экспорта и параметры фильтра.

Пиктограммы контрольных дорожек

В разделе результатов контроля используются следующие значки:

Пиктограмма	Наименование	Описание
	Анализ	Указывает на изменение параметров анализа или статуса анализа.
	Прогон	Указывает на изменение параметров прогона или статуса прогона.
	Система	Указывает на изменение параметров настройки модуля или системы.
	Пользователь	Указывает на действие пользователя или аутентификацию пользователя.

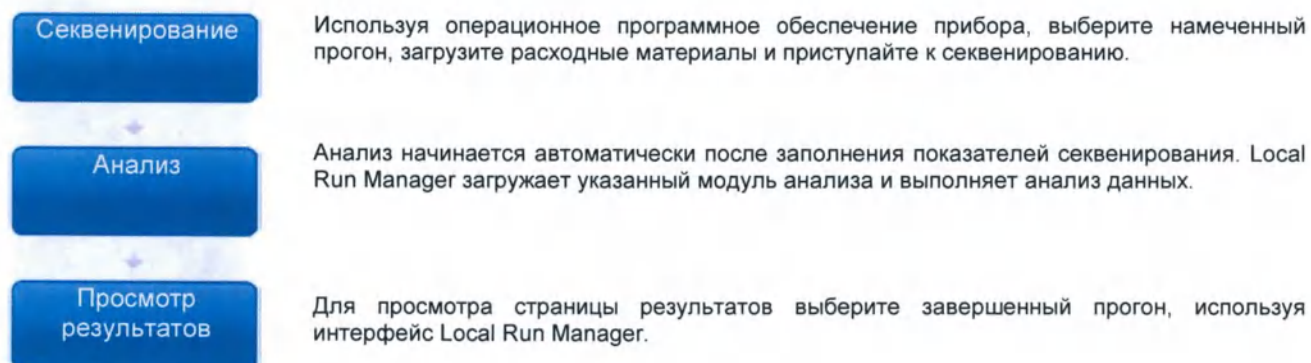
Общие сведения о рабочем процессе

В настоящем руководстве представлены общие сведения о рабочем процессе создания прогона и просмотра результатов анализа в программном обеспечении Local Run Manager. Поскольку определенные этапы у каждого модуля анализа различны, пошаговые инструкции следует смотреть в соответствующем руководстве по рабочему процессу используемого модуля анализа.

Рабочий процесс «Local Run Manager»

Создать прогон

Создайте прогон, используя интерфейс «Local Run Manager».



Общие сведения об установке параметров

Установка параметров прогона производится с помощью команды «Создать прогон» (Create Run) на главной странице Local Run Manager и выбора модуля анализа из выпадающего списка. На странице создания прогона представлены варианты для выбранного модуля анализа.

Страница создания прогона состоит из текстовых полей, выпадающих списков и таблицы образцов, характерных для каждого модуля анализа. Страницы создания прогона имеют разделы:

- ▶ «Название прогона» (Run Name)
- ▶ «Образцы» (Samples)

Название прогона и описание

Название прогона представляет собой название, позволяющее идентифицировать этот прогон во всех текущих анализах секвенирования. Название прогона может содержать до 40 буквенно-цифровых символов. Допустимо использование пробелов, подчеркнутых пробелов и дефисов.

Описание прогона является произвольным и может содержать до 150 буквенно-цифровых символов.

Настройка параметров прогона

В настройках параметров прогона указывают следующие параметры прогона:

- ▶ Тип прочтения, одиночное прочтение или парно-концевое
- ▶ Количество прочтений индексов, 0, 1, или 2.
- ▶ Количество циклов для каждого прочтения.
- ▶ Прочтения, использующие заказные праймеры, если применимы.

Для некоторых модулей анализа разрешается использовать только выбор по умолчанию.

Особые параметры модуля

Особые параметры модуля, представленные в этом разделе, зависят от конкретного модуля анализа, выбранного для прогона. У некоторых модулей анализа отсутствуют особые параметры.

Более подробную информацию можно найти в инструкции по использованию модуля анализа.

Раздел «Образцы»

В таблице образцов укажите образцы, подлежащие секвенированию, для каждого прогона. В таблице образцов указаны идентификационный номер (ID) образца, произвольное описание и индексы, используемые с каждым образцом.

Столбцы индексов содержат выпадающий список совместимых адаптеров индексов.

Образцы можно импортировать из совместимого текстового файла.

Импорт и экспорт образцов

В разделе «Образцы» имеются команды для импорта образцов. Для этого создайте таблицу образцов во внешнем файле в формате значений с разделителями-запятыми (comma-separated values; *.csv). Шаблон доступен для загрузки во вкладку импорта образцов (Import Samples).

Просмотр данных прогона и образца

Для просмотра результатов прогона выберите название прогона на главной странице Local Run Manager (Local Run Manager).

Сводка результатов представлена в следующих вкладках:

- Общие сведения о прогоне (Run Overview)
- Информация о секвенировании (Sequencing Information)
- Образцы и результаты (Samples and Results)

Вкладка «Общие сведения о прогоне» (Run Overview)

Во вкладке «Общие сведения о прогоне» (Run Overview) указана информация о прогоне, сводка показателей секвенирования и расположение папки прогона.

Название раздела	Описание
Название прогона / Идентификационный номер прогона (ID)	Название прогона присваивается при его создании.
Создан	Имя пользователя, создавшего этот прогон.
Описание	Описание прогона, если есть.
Папка выходных данных прогона	Путь к папке выходных данных прогона секвенирования. Для быстрого доступа к папке выходных данных выберите пиктограмму  «Скопировать в буфер» (Copy to Clipboard).
Всего кластеров	Количество кластеров в одном прогоне.
Процент кластеров ЧФ (% Clusters PF)	Процент кластеров, проходящих через фильтр.
% > Q30 (Прочтение 1)	Процент прочтений в Прочтении 1 с 30 (Q30) или более баллами качества.
% > Q30 (Прочтение 2)	Процент прочтений в Прочтении 2 с 30 (Q30) или более баллами качества.
Последний цикл с баллами (Last Scored Cycle)	Последний цикл прогона, имеющий баллы качества. Если цикл не завершился досрочно, это значение представляет последний цикл прогона.

Вкладка «Информация о секвенировании» (Sequencing Information)

Во вкладке «Информация о секвенировании» (Sequencing Information) представлены сводные данные о параметрах прогона секвенирования. Во вкладке «Информация о секвенировании» (Sequencing Information) представлена следующая информация:

Название раздела	Описание
Название прибора	Название прибора, на котором был выполнен прогон.
Секвенирование выполнил	Имя пользователя, запустившего этот прогон.
Начало секвенирования	Дата и время начала прогона секвенирования.
Длина прочтений	Количество прочтений и циклов каждого прочтения, выполненных во время прогона.
Информация о проточной ячейке	Штрих-код, номер изделия, номер партии и срок годности используемой для прогона проточной ячейки.

Название раздела	Описание
Информация о картридже с реагентами	Штрих-код, номер изделия, номер партии и срок годности используемого для прогона картриджа с реагентами.
Химический метод	Химический метод подготовки библиотек.
Версия химического вещества	Версия химического вещества универсального набора реагентов MiSeqDx
Версия программного обеспечения анализа в режиме реального времени (RTA)	Используемая для прогона версия программного обеспечения анализа в режиме реального времени (RTA)
Версия модуля	Версия программного обеспечения модуля «Local Run Manager».
Информация о флаконе с буфером PR2	Штрих-код, номер изделия, номер партии и срок годности используемого для прогона флакона с буфером PR2.

Вкладка «Образцы и результаты» (Samples and Results)

Во вкладке «Образцы и результаты» (Samples and Results) представлены сводные данные о результатах анализа по каждому из указанных в таблице образцов, расположение папки анализа и опция повторной очередности анализа. Информация, представленная во вкладке «Образцы и результаты» (Samples and Results), относится к модулю анализа, используемому для прогона.

В каждый отчет включены названия образцов, версия программного обеспечения для анализа или прикладного программного обеспечения, а также дата составления отчета. Вкладка содержит следующие информационные поля.

Название раздела	Описание
Выбрать анализ (Select Analysis)	Выпадающий список каждого анализа данных, сгенерированных из прогона секвенирования. Для каждого запуска анализа назначается порядковый номер. Результаты указаны отдельно.
Папка «Анализ» (Analysis)	Путь к папке анализа. Для быстрого доступа к папке анализа выберите пиктограмму  «Скопировать в буфер» (Copy to Clipboard).
Возврат анализа в очередь	Команда на выполнение повторного анализа данных прогона секвенирования. Команда дает возможность редактировать параметры анализа или действовать без изменений.

Возможные состояния прогона

В столбце статуса (Status) на главной странице отображается статус каждого из указанных прогонов. В таблице ниже описаны возможные состояния прогона со строкой состояния в столбце статуса (Status).

Состояние	Цвет строки	Описание статуса
Готов к секвенированию	Нет	Ожидает начала прогона секвенирования.
Секвенирование выполняется	Синий цвет	Секвенирование находится в процессе выполнения.
Не удалось выполнить секвенирование	Красный цвет	Проблема секвенирования. Бездействие.
Секвенирование остановлено	Красный цвет	Секвенирование остановлено. Бездействие.
Секвенирование завершено	Синий цвет	Секвенирование завершено. Строка состояния светится на 50 .
Выполнен основной анализ	Синий цвет	Завершена установка показателей секвенирования. Строка состояния светится на 50 .
Не удалось выполнить основной анализ	Красный цвет	Не удалось выполнить анализ в режиме реального времени (RTA). Строка состояния светится на 25 .
Анализ поставлен в очередь	Синий цвет	Ожидание начала анализа.

Состояние	Цвет состояния	строки	Описание статуса
Анализ выполняется	Синий цвет		Анализ находится в процессе выполнения.
Не удалось выполнить анализ	Красный цвет		Проблема анализа. Бездействие.
Остановка анализа	Красный цвет		Получен запрос на остановку анализа.
Анализ остановлен	Красный цвет		Анализ остановлен. Бездействие.
Анализ завершен.	Зеленый цвет		Операция завершена. Строка состояния светится на 100% .

История изменений

Документ №	Дата	Описание изменений
Документ № 1000000011880 в. 02	Август 2021 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя ЕС.
Документ № 1000000011880 в. 01	Декабрь 2019 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя ЕС. Обновлен адрес австралийского спонсора
Документ № 1000000011880 в. 00	Август 2017 г.	Первоначальный выпуск.

Техническая поддержка

По всем техническим вопросам обращайтесь в службу тех-поддержки компании Illumina.

Веб-сайт: www.illumina.com
Эл. почта: techsupport@illumina.com

Номера телефонов службы тех-поддержки компании Illumina

Регион	Бесплатный номер	Региональная поддержка
Северная Америка	+ 1.800.809.4566	
Австралия	+ 1 800 775 688	
Австрия	+43 800006249	+43 19286540
Бельгия	+32 80077160	+32 34002973
Китай	400.635.9898	
Дания	+45 80820183	+45 89871156
Финляндия	+358 800918363	+358 974790110
Франция	+33 805102193	+33170770446
Германия	+49 8001014940	+49 8938035677
Hong Kong	800960230	
Ирландия	+3531800936608	+353016950506
Италия	+39 800985513	+39 236003759
Япония	0800 111 5011	
Нидерланды	+31 8000222493	+31 207132960
Новая Зеландия	0800 451 650	
Норвегия	+47 800 16836	+47 21939693
Сингапур	+ 1.800.579 2745	
Испания	+34 911899417	+34 800300143
Швеция	+46 850619671	+46 200883979
Швейцария	+41 565800000	+41 800200442
Тайвань (Taiwan)	00806651752	
Великобритания (United Kingdom)	+44 8000126019	+44 2073057197
Другие страны	+44 1799 534000	

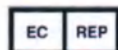
Паспорта безопасности материалов (SDS) доступны на веб-сайте компании Illumina support.illumina.com/sds.html.

Документация на изделия доступна для загрузки в формате PDF на веб-сайте компании Illumina. Перейдите на сайт support.illumina.com, выберите продукт, затем «Документация и литература» (Documentation & Literature).



Компания Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 США.
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (за пределами Северной Америки)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

CE



Illumina Netherlands B. V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands (Нидерланды)

Спонсор в Австралии
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Australia (Австралия)

ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ IN VITRO

© 2021 Illumina, Inc. Все права защищены.

illumina®

Генетический секвенатор MiSeqDx

Руководство по подготовке места для установки приборов с конфигурацией многовариантной загрузки

ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ДИАГНОСТИКЕ IN VITRO

Введение	4
Доставка и установка прибора	5
Требования к лабораториям	7
Требования к электрической части	10
Источник бесперебойного питания	11
Условия окружающей среды	12
Требования к компьютерной сети	13
Антивирусные программы	14
Расходные материалы и оборудование, приобретаемые пользователем	15
Техническая поддержка	16

ЗАЩИЩЕНО ПРАВОМ СОБСТВЕННОСТИ ILLUMINA
Документ № 15070066 v04
Август 2021 г.

illumina®

Настоящий документ и его содержание является собственностью компании Illumina, Inc. и ее аффилированных лиц (Illumina) и предназначен исключительно для использования заказчиком компании согласно договору и совместно с использованием другого (-их) изделия (-й), которые описаны в настоящем документе, и ни для какой другой цели. Использование или распространение настоящего документа для любых других целей и/или иной передачи, раскрытия или воспроизведения содержания документа любым способом без письменного согласия компании Illumina запрещены. Настоящим документом компания Illumina не передает никаких лицензий в соответствии со своими патентами, товарными знаками и авторскими правами или в соответствии с нормами общего права или подобными правами третьих лиц.

Для правильного и безопасного использования описанного (-ых) в настоящем документе изделия (-й) работы должны выполняться квалифицированным и специально обученным персоналом строго в соответствии с указанными в настоящем документе инструкциями. Перед использованием такого (-их) изделия (-й) обязательно следует ознакомиться со всей информацией, представленной в настоящем документе.

НЕПОЛНОЕ ОЗНАКОМЛЕНИЕ С ИНФОРМАЦИЕЙ И НЕТОЧНОЕ СОБЛЮДЕНИЕ ВСЕХ УКАЗАННЫХ ИНСТРУКЦИЙ МОЖЕТ ПРИВЕСТИ К ПОВРЕЖДЕНИЮ ИЗДЕЛИЯ (-Й), ТРАВМИРОВАНИЮ ПЕРСОНАЛА, В ТОМ ЧИСЛЕ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ И ДРУГИХ ЛИЦ, И НАНЕСЕНИЮ УЩЕРБА ДРУГОМУ ИМУЩЕСТВУ.

КОМПАНИЯ ILLUMINA НЕ ПРИНИМАЕТ НА СЕБЯ НИКАКОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА НЕПРАВИЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОПИСАННОГО ИЗДЕЛИЯ (-Й), ВКЛЮЧАЯ ИХ КОМПОНЕНТЫ ИЛИ ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ.

Авторское право © 2021 Компания Illumina, Inc. Все права защищены.

Товарными знаками компании Illumina, Inc. и ее аффилированных лиц в США и/или других странах являются Illumina, MiSeq, MiSeqDx, цвет оранжевой тыквы и дизайн работы базовой конструкции в поточном режиме. Все прочие наименования, логотипы и прочие товарные знаки принадлежат другим соответствующим владельцам.

История редакций

Документ №	Дата	Описание изменения
Документ № 15070066 v04	Август 2021 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя ЕС.
Документ № 15070066 v03	Декабрь 2019 г.	Обновлен адрес уполномоченного представителя ЕС. Обновлен адрес заказчика в Австралии.
Документ № 15070066 v02	Август 2017 г.	Добавлены ссылки на <i>Справочное руководство для генетического секвенатора MiSeqDx с MOS в.2 (№ документа 1000000021961)</i> . В раздел «Расходные материалы, приобретаемые пользователем» добавлены материалы для промывки проточной системы. Обновлены нормативные маркировочные знаки на задней стороне.
Документ № 15070066 v01	Декабрь 2016 г.	Изменен тип воды, требующейся для промывки прибора: вместо воды без ДНКаз и РНКаз - вода лабораторного качества. Приведен перечень приемлемых примеров воды лабораторного качества, включая Illumina PW1. Изменены рекомендации для сетевого кабеля: вместо экранированного сетевого кабеля CAT6 — неэкранированный сетевой кабель CAT 5е локальной компьютерной сети. Изменения маркировки и форматирования.
Часть № 15070066 ред. А.	Март 2015 г.	Первый выпуск. Для пользователей, у которых прибор с конфигурацией двойной загрузки, это Руководство заменяет Руководство по подготовке места для приборов MiSeqDx (Часть № 15038351).

Введение

В данной инструкции приведены технические требования и указания по подготовке места установки и эксплуатации генетического секвенатора MiSeqDx:

- ▶ Требования к пространству в лаборатории
- ▶ Требования к электрической части
- ▶ Условия окружающей среды
- ▶ Требования к вычислительным устройствам
- ▶ Расходные материалы и оборудование, приобретаемые пользователем

Дополнительные источники информации

Следующую документацию можно загрузить на странице техподдержки генетического секвенатора MiSeqDx на веб-сайте компании Illumina.

Тип генетического секвенатора MiSeqDx	Руководства
Все	<i>Руководство по обеспечению безопасности и соответствия требованиям для генетического секвенатора MiSeqDx (№ документа 15034477) — Приведена информация о маркировке прибора, сертификации соответствия требованиям и технике безопасности.</i>
MOS v.2	<i>Справочное руководство для генетического секвенатора MiSeqDx с MOS v2 (№ документа 1000000021961) — для генетических секвенаторов с операционным программным обеспечением MiSeq (MOS) версии 2. (Все генетические секвенаторы с MOS версии 2 имеют конфигурацию многовариантной загрузки). Приведен обзор компонентов и программного обеспечения генетического секвенатора, инструкции по проведению секвенирования и методик надлежащего технического обслуживания генетического секвенатора и устранения неисправностей.</i>

Чтобы получить доступ к документации, загрузке программного обеспечения, часто задаваемым вопросам и интернет-курсам обучения, посетите страницу техподдержки генетического секвенатора MiSeqDx на веб-сайте компании Illumina. Для входа в систему требуется логин MyIllumina.

Доставка и установка прибора

Уполномоченный поставщик услуг компании Illumina осуществляет доставку, распаковку и размещение генетического секвенатора MiSeqDx на лабораторном столе. Перед доставкой пространство и рабочий стол должны быть заранее подготовлены.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Распаковывать, устанавливать и перемещать генетический секвенатор MiSeqDx разрешается только уполномоченным сотрудникам компании Illumina. Неправильная установка прибора может привести к нарушению процесса сборки или повреждению компонентов прибора.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Прибор является крупногабаритным. Неправильное распаковывание, установка и перемещение генетического секвенатора MiSeqDx может:

- ▶ Вызвать серьезное повреждение при падении или неправильном обращении.
- ▶ Вызвать повреждение или поломку генетического секвенатора.

Установку и сборку генетического секвенатора осуществляет представитель компании Illumina. Если планируется подключение генетического секвенатора к системе управления данными или к удаленному сетевому каталогу, до даты установки необходимо получить путь к каталогу хранения данных. Заранее выбранный путь дает возможность представителю компании Illumina проверить процесс передачи данных в ходе установки прибора.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

После установки и сборки генетического секвенатора MiSeqDx представителем компании Illumina **не** изменяйте местоположение прибора. Неправильное перемещение прибора может нарушить сборку оптических компонентов и повлиять на целостность данных. Чтобы переместить прибор MiSeqDx на новое место, обратитесь к вашему представителю компании Illumina.

Размеры и содержание упаковки

Перевозка генетического секвенатора MiSeqDx осуществляется в одном упаковочном ящике. Используйте указанные ниже размеры для определения минимальной ширины дверного проема, необходимой для прохода транспортировочного контейнера.

Измерение	Размеры в упаковке
Ширина	72,4 см (28,5 дюйма)
Высота	76,8 см (30,25 дюйма)
Глубина	83,8 см (33 дюйма)
Масса	90,7 кг (200 фунтов)

В упаковочном ящике находится генетический секвенатор MiSeqDx со следующими компонентами:

- ▶ Бутыль для слива отработанной жидкости, поддон для стока и две наклейки с указанием мест крепежа при транспортировке.
- ▶ Комплект дополнительных принадлежностей генетического секвенатора MiSeqDx, содержащий следующие компоненты:
 1. Лоток для промывки прибора
 2. Бутыль для промывки прибора, 500 мл
 3. Крышка для банки для слива отработанной жидкости
 4. Т-образный М6 шестигранный ключ, 6 дюймов
 5. Т-образный 5/64'' шестигранный ключ, 6 дюймов

Доставка и установка прибора

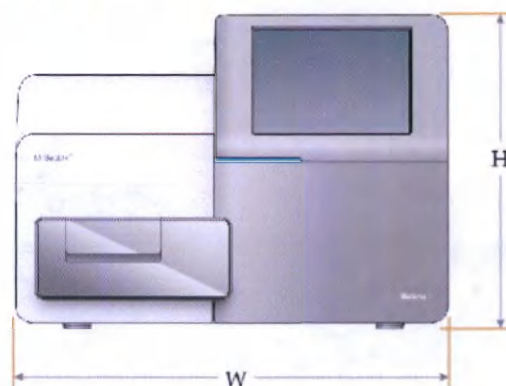
6. Кабель для подключения к интернет сети
7. Кабель электропитания

Требования к лабораториям

В данном разделе приведены требования и инструкции по подготовке места установки генетического секвенатора MiSeqDx в лаборатории. Более подробную информацию см. в разделе «Условия окружающей среды» на странице 11.

Размеры прибора

Рисунок 1. Генетический секвенатор MiSeqDx



Генетический секвенатор MiSeqDx имеет указанные ниже размеры в установленном состоянии:

Измерение	Размеры прибора
Ширина	68,6 см (27 дюймов)
Высота	52,3 см (20,6 дюйма)
Глубина	56,5 см (22,2 дюйма)
Масса	57,2 кг (126 фунтов)

Требования к размещению

Генетический секвенатор MiSeqDx должен быть установлен в месте с необходимой вентиляцией, доступом к выключателю питания и розетке, а также с возможностью доступа для техобслуживания.

- Обеспечьте свободное пространство с правой стороны прибора для доступа к тумблеру включения питания на задней панели, расположенному рядом со шнуром электропитания.
- Расположите прибор так, чтобы у рабочего персонала был свободный доступ к розетке для возможности быстрого отсоединения кабеля питания.
- Доступ к прибору должен быть обеспечен со всех сторон с указанным ниже минимальным свободным пространством:

Доступ	Минимальное свободное пространство
По сторонам	Допускается минимум 61 см (24 дюйма) с каждой стороны прибора.
Сзади	Допускается минимум 10,2 см (4 дюйма) за прибором.
Сверху	Допускается минимум 61 см (24 дюйма) над прибором. Если прибор расположен под полкой, убедитесь, что его расположение соответствует требованиям к минимальному свободному пространству.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ**

Чтобы переместить генетический секвенатор MiSeqDx на новое место, обратитесь к вашему представителю компании Illumina. Неправильное перемещение прибора может нарушить юстировку оптических компонентов и повлиять на целостность данных.

Руководство для рабочего стола

Illumina рекомендует размещать прибор на лабораторном столе без роликов. Стол должен выдерживать массу прибора, которая составляет 57,2 кг (126 фунтов).

Ширина	Высота	Глубина	Ролики
122 см (48 дюймов)	91,4 см (36 дюймов)	76,2 см (30 дюймов)	Нет

Руководство по устранению вибрации**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ**

Генетический секвенатор MiSeqDx чувствителен к вибрации.

Выполните следующие указания, чтобы минимизировать вибрацию во время циклов секвенирования и обеспечить оптимальную работу прибора:

- ▶ Установите прибор на устойчивый неподвижный лабораторный стол.
- ▶ Не устанавливайте на стол другое оборудование, которое может создавать вибрации, например, шейкер, вортекс, центрифуга, или приборы с мощными вентиляторами.
- ▶ Не устанавливайте прибор вблизи дверей, которыми часто пользуются. Открывание и закрывание дверей может создавать вибрации.
- ▶ Не устанавливайте выдвижную панель клавиатуры ниже рабочего стола.
- ▶ При работе прибора в режиме секвенирования не прикасайтесь к прибору, не открывайте дверцу отсека для реагентов и не кладите предметы сверху на прибор.

Лабораторные условия для ПЦР

Процесс полимеразной цепной реакции (ПЦР) используется при приготовлении библиотек для секвенирования ампликонов. При несоблюдении надлежащих мер предосторожности продукты ПЦР могут загрязнять реагенты, приборы и образцы, что приводит к получению некорректных и ненадежных результатов. Загрязнение продуктами ПЦР может отрицательно влиять на процессы работы в лаборатории и приводить к задержкам рабочих операций.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ**

Необходимо предусмотреть специальные зоны и лабораторные методики для предотвращения загрязнения продуктами ПЦР перед началом работы в лаборатории.

Предусмотрите территориально разделенные зоны

Убедитесь, что условия в лаборатории позволяют надлежащим образом снизить риск загрязнения продуктами ПЦР.

- Предусмотрите в лаборатории территориально отделенную зону «пре ПЦР» для выполнения процессов подготовки к ПЦР (выделение ДНК, количественное определение и нормализация).
- Предусмотрите в лаборатории территориально отделенную зону «пост ПЦР» для получения и обработки продуктов ПЦР.
- Не промывайте материалы для подготовки к ПЦР в одной раковине с материалами для обработки продуктов ПЦР.
- Не используйте одну систему водоподготовки для процессов «пре ПЦР» и «пост

ПЦР».

- Храните принадлежности, используемые в протоколах «пре ПЦР» в зоне «пре ПЦР», и переносите их в зону «пост ПЦР», если необходимо.
- **Прибор должен быть установлен в лаборатории в зоне «пост ПЦР».**

Специализированное оборудование и принадлежности

- Предусмотрите отдельные полные комплекты оборудования и принадлежностей (пипетки, термостат, термоблок, вортекс, центрифуга и т. д.) для процессов «пре ПЦР» и «пост ПЦР» и не используйте для них одно и то же оборудование.
- Предусмотрите отдельные места хранения (морозильные камеры и холодильники) для расходных материалов «пре ПЦР» и «пост ПЦР».

Требования к электрической части

В этом разделе представлены технические характеристики электропитания и описаны требования к электрической части в вашей организации.

Технические характеристики электропитания

Тип	Техническая характеристика
Напряжение сети	100–240 В перем. тока 50/60 Гц
Потребляемая мощность	400 Вт

Подключение

В вашей организации должна быть предусмотрена электропроводка со следующими характеристиками:

- ▶ **Для напряжения 100–110 В перем. тока** требуется выделенная линия электропитания с нормальным напряжением и электрическим заземлением, обеспечивающая ток 10 А.
Тип розетки для Северной Америки и Японии: NEMA 5-15
- ▶ **Для напряжения 220–240 В перем. тока** требуется выделенная линия электропитания с нормальным напряжением и электрическим заземлением, обеспечивающая ток 6 А.
- ▶ Если колебания напряжения составляют больше 10 %, требуется установка стабилизатора.

Защитное заземление



На генетическом секвенаторе MiSeqDx предусмотрено подключение корпуса к системе защитного заземления. Система защитного заземления кабеля электропитания обеспечивает относительно безопасный уровень защитного заземления. При работе прибора подключение защитного заземления на кабеле питания должно быть в надлежащем рабочем состоянии.

Кабель питания

На генетическом секвенаторе имеется гнездо сети питания, соответствующее требованиям международного стандарта IEC 60320 C13, и в комплекте поставляется кабель питания для нужного региона.

Опасные напряжения отсутствуют в генетическом секвенаторе только тогда, когда кабель питания отсоединен от источника напряжения сети переменного тока.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Для подключения генетического секвенатора к источнику питания никогда не используйте удлинители.

Предохранители

В генетическом секвенаторе MiSeqDx отсутствуют предохранители, которые могут быть заменены пользователем.

Источник бесперебойного питания

Пользователю настоятельно рекомендуется приобрести и использовать источник бесперебойного питания (ИБП). Компания Illumina не несет ответственности за сбои рабочих циклов в связи с перебоями напряжения питания прибора, независимо от наличия ИБП. Использование стандартных генераторов не может обеспечить бесперебойное резервное питание, так как обычно перед восстановлением питания происходит кратковременный провал напряжения, что приводит к прерыванию прогона секвенирования.

Условия окружающей среды

Элемент	Техническая характеристика
Температура	Транспортировка и хранение: от -10 °C до 40 °C (от 14 °F до 104 °F). Эксплуатация: от 19 °C до 25 °C (от 66 °F до 77 °F)
Влажность	Транспортировка и хранение: Относительная влажность без образования конденсата. Эксплуатация: относительная влажность 30–75 % (без образования конденсата)
Высота над уровнем моря	Устанавливайте прибор на высотной отметке ниже 2000 метров (6500 футов).
Качество воздуха	Используйте прибор в условиях воздуха степени загрязнения II или чище. Воздух степени загрязнения II обычно содержит только непроводящие загрязняющие вещества.
Вентиляция	Проконсультируйтесь с соответствующим отделом вашей компании, чтобы выработать требования к вентиляции на основании характеристик тепловыделения прибора.

Тепловыделение

Измеренная мощность	Тепловая мощность
400 Вт	1364 БТЕ/ч

Уровень шума

В генетическом секвенаторе MiSeqDx предусмотрено воздушное охлаждение. Во время работы прибора шум вентилятора четко слышен.

Уровень шума (дБ)	Расстояние от прибора
<62 дБ	1 м (3,3 фута)

Измеренный уровень шума <62 дБ соответствует уровню звука обычного разговора на расстоянии примерно 1 метр (3,3 фута).

Требования к компьютерной сети

В связи с объемом данных, создаваемых генетическим секвенатором MiSeqDx, рекомендуется его подключение к компьютерной сети.

- ▶ В комплекте с прибором прилагается неэкранированный кабель CAT 5e локальной компьютерной сети длиной 3 метра (9,8 фута).

Подключение к компьютерной сети и Интернет-соединение требуется для использования следующих функций:

- ▶ Прием и установка обновлений программного обеспечения с интерфейса операционной системы MiSeq (MOS).
- ▶ Доступ с интерфейса MOS к файлам описания, шаблонам протокола исследования и ссылкам, расположенным на сервере компьютерной сети.
- ▶ Простое перемещение подлежащих хранению данных предыдущих циклов и анализов в распоряжение сервера и управление свободным местом на диске встроенного компьютера генетического секвенатора MiSeqDx.
- ▶ Отслеживание и управление дополнительным анализом с помощью аналитического программного обеспечения MiSeq Reporter.
- ▶ Использование встроенной функции Live Help прибора, позволяющей связаться со службой техподдержки Illumina для устранения неисправностей.



ПРИМЕЧАНИЕ

После подключения к компьютерной сети установите конфигурацию обновлений Windows, чтобы не допустить автоматического обновления генетического секвенатора MiSeqDx. Если сохранить автоматическое обновление, генетический секвенатор MiSeqDx может начать перезапуск в середине прогона. Если это произойдет, начните прогон сначала.

Конфигурация многовариантной загрузки

Генетический секвенатор MiSeqDx имеет конфигурацию многовариантной загрузки с двумя операционными системами. Одна операционная система предназначена для работы в диагностическом режиме, а вторая — для работы в исследовательском режиме (RUO). Эти две разные операционные системы подключены к одному и тому же каналу. Каждая ОС имеет свое имя компьютера, поэтому вы видите в сети только одну из двух операционных систем одновременно. Если вы видите другое имя компьютера на канале, система работает нормально и указывает на переключение режима работы генетического секвенатора MiSeqDx между диагностическим и исследовательским.

Сетевая поддержка

Компания Illumina не выполняет установку и не оказывает техническую поддержку сетевых подключений прибора.

Для установки и технического обслуживания сетевого подключения используйте следующие рекомендации:

- ▶ Используйте соединение с пропускной способностью 1 гигабит между прибором и системой управления данными. Это соединение можно создать напрямую или через сетевой коммутатор.
- ▶ Для устранения потенциальных рисков, связанных с совместимостью системы, обратитесь к ИТ-специалисту вашей организации с просьбой о проверке работы технического обслуживания сети.



ПРИМЕЧАНИЕ

Не устанавливайте на генетический секвенатор MiSeqDx дополнительное программное обеспечение. Неизвестно, как дополнительное программное обеспечение повлияет на функционирование и рабочие характеристики генетического секвенатора MiSeqDx, и может нарушить его работу.

Руководство по подготовке места для установки генетического секвенатора

MiSeqDx с конфигурацией многовариантной загрузки

Документ № 15070066 v04

Антивирусные программы

Для защиты компьютера прибора от вирусных атак Illumina настоятельно рекомендует установить антивирусную программу, которую пользователь может установить самостоятельно.

Во избежание вмешательства в работу генетического секвенатора MiSeqDx или потери данных сконфигурируйте антивирусную программу следующим образом:

- ▶ Установите режим ручного сканирования; не допускайте автоматических сканирований.
- ▶ Выполняйте сканирование только в то время, когда прибор не используется.
- ▶ Установите режим загрузки обновлений без запроса разрешения пользователя и без автоматической установки.
- ▶ Не допускайте автоматической перезагрузки компьютера после обновления.
- ▶ Исключите каталог приложения и диски с данными из области действия какой-либо системы защиты в реальном времени.

Расходные материалы и оборудование, приобретаемые пользователем

Для выполнения прогонов секвенирования на генетическом секвенаторе MiSeqDx требуются указанные ниже расходные материалы и оборудование. Дополнительную информацию см. в документе *Справочное руководство прибора генетический секвенатор MiSeqDx с MOS в.2 (№ документа 1000000021961)*.

Расходные материалы, приобретаемые пользователем

Перед началом проведения прогона убедитесь, что в распоряжении имеются следующие расходные материалы, предоставляемые пользователем.

Расходный материал	Цель
Спиртовые салфетки, 70 % изопропиловый спирт или 70 % этанол	Для очистки стекла и фиксатора ячейки проточной
Лабораторные салфетки, безворсовые	Для очистки фиксатора ячейки проточной
Бумага для протирки оптических стекол, 4 x 6 дюймов	Для очистки ячейки проточной
Пробирки MiSeq	Промывка проточной системы (опционально)
NaOCl, 5 %	Промывка проточной системы (опционально)
Твин 20	Промывка прибора
Пинцеты пластиковые с квадратными концами (опционально)	Извлечение ячейки проточной из контейнера для перевозки ячейки проточной
Вода лабораторного качества	Промывка прибора

Указания по использованию воды лабораторного качества

Для выполнения работ на генетическом секвенаторе всегда используйте воду лабораторного качества. Никогда не используйте водопроводную воду. Ниже приведены приемлемые примеры:

- ▶ Illumina PW1
- ▶ вода с эл. сопротивлением 18 МОм (MQ)
- ▶ вода Milli-Q
- ▶ вода Super-Q
- ▶ Вода для молекулярной биологии

Оборудование, приобретаемое пользователем

- ▶ Морозильная камера, от -25 °C до -15 °C, без образования наледи
- ▶ Ведерко для льда
- ▶ Холодильник, от 2 °C до 8 °C

Техническая поддержка

По всем техническим вопросам обращайтесь в службу техподдержки компании Illumina.

Таблица 1. Общая контактная информация компании Illumina

Веб-сайт	www.illumina.com
Эл. почта	techsupport@illumina.com

Таблица 2. Номера телефонов службы техподдержки компании Illumina

Регион	Контактный номер телефона	Регион	Контактный номер телефона
Северная Америка	1 800 809 4566	Италия	800 874909
Австралия	1 800 775 688	Нидерланды	0800 0223859
Австрия	0800 296575	Новая Зеландия	0800 451 650
Бельгия	0800 81102	Норвегия	800 16836
Дания	80882346	Испания	900 812168
Финляндия	0800 918363	Швеция	020790181
Франция	0800 911850	Швейцария	0800 563118
Германия	0800 180 8994	Великобритания	0800 917 0041
Ирландия	1 800 812949	Другие страны	+44 1799 534000

Паспорта безопасности

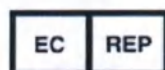
Паспорта безопасности (ПБ) доступны на веб-сайте компании Illumina support.illumina.com/sds.html.

Документация на продукцию

Документацию на продукцию в формате PDF можно загрузить на веб-сайте компании Illumina. Перейдите по ссылке support.illumina.com, выберите продукцию, затем выберите раздел «Документация и литература» (**Documentation & Literature**).



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A. (США)
+1-800-809-ILMN (4566)
+1-858-202-4566 (за пределами Северной
Америки)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands (Нидерланды)

Спонсор в Австралии
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Australia (Австралия)

IMPORTANT CUSTOMER INFORMATION

ENGLISH

Read the Safety and Compliance Guide before performing any procedures on the instrument.

- *MiSeqDx Safety and Compliance Guide (document # 15034477)*
- *MiSeq Safety and Compliance Guide (document # 15027616)*

The guide provides important safety information pertaining to the installation, servicing, and operation of the instrument. The guide also includes product compliance and regulatory statements.

Simplified Declaration of Conformity

Illumina, Inc. hereby declares that the radio equipment type for the MiSeqDx/MiSeq instrument is in compliance with Directive 2014/53/EU. The full text of the EU Declaration of Conformity is available at the following URL.

support.illumina.com/certificates.html

To download the safety and compliance guide, instrument package insert, or other instrument documentation

- 1 Go to support.illumina.com.
- 2 Navigate to your product.
- 3 Under the **Documentation** column, select **View All**.

For questions, contact your local account manager or Illumina Customer Support.

RENSEIGNEMENTS IMPORTANTS DESTINÉS AUX CLIENTS

FRAANÇAIS

Lisez le Guide de sécurité et de conformité avant d'effectuer toute procédure sur l'instrument.

- *Guide de sécurité et de conformité de l'instrument MiSeqDx (document n° 15034477)*
- *Guide de sécurité et de conformité du système MiSeq (document n° 15027616)*

Ce guide fournit les renseignements de sécurité importants relatifs à l'installation, à l'entretien et à l'utilisation de l'instrument. Il comprend également les déclarations de conformité et de réglementation du produit.

Déclaration de conformité simplifiée

Illumina, Inc. déclare par les présentes que le type d'équipement radioélectrique de l'instrument MiSeqDx/MiSeq est conforme à la directive 2014/53/UE. Le texte complet de la déclaration de conformité pour l'UE se trouve à l'adresse suivante :

support.illumina.com/certificates.html

Pour télécharger le Guide de sécurité et de conformité, la Notice d'accompagnement de l'instrument ou toute autre documentation relative à l'instrument :

- 1 Rendez-vous sur le site support.illumina.com.
- 2 Naviguez jusqu'à votre produit.
- 3 Sous la colonne **Documentation**, cliquez sur **View All** (Afficher tout).

Si vous avez des questions, communiquez avec le gestionnaire de compte local ou l'assistance clientèle d'Illumina.

INFORMAZIONI IMPORTANTI PER IL CLIENTE

ITALIANO

Prima di eseguire qualsiasi procedura sullo strumento, leggere la Guida alla sicurezza e conformità dello strumento.

- *Guida alla sicurezza e conformità di MiSeqDx (documento n. 15034477)*
- *Guida alla sicurezza e conformità di MiSeq (documento n. 15027616)*

La guida fornisce importanti informazioni di sicurezza relative all'installazione, alla manutenzione e al funzionamento dello strumento. La guida include inoltre la conformità del prodotto e le dichiarazioni di conformità alle normative.

Dichiarazione di conformità semplificata

Illumina, Inc. dichiara che il tipo di apparecchiatura radio per lo strumento MiSeqDx/MiSeq è conforme alla Direttiva 2014/53/UE. Il testo completo della dichiarazione di conformità per l'UE è disponibile al seguente indirizzo URL.

support.illumina.com/certificates.html

Per scaricare la guida alla conformità e sicurezza, l'insero della confezione dello strumento o altra documentazione dello strumento

- 1 Andare alla pagina Web support.illumina.com.
- 2 Individuare il prodotto.
- 3 Nella colonna **Documentation** (Documentazione), selezionare **View All** (Vedi tutti).

Per eventuali domande, rivolgersi al responsabile di zona o all'Assistenza Clienti Illumina.

WICHTIGE INFORMATION FÜR KUNDEN

DEUTSCH

Machen Sie sich vor der Verwendung des Geräts mit dem Sicherheits- und Compliance-Handbuch vertraut.

- *MiSeqDx Sicherheits- und Compliance-Handbuch (Dokument-Nr. 15034477)*
- *MiSeq Sicherheits- und Compliance-Handbuch (Dokument-Nr. 15027616)*

Das Handbuch enthält wichtige sicherheitsrelevante Informationen bezüglich der Installation, Wartung und Bedienung des Geräts. Es enthält außerdem Erklärungen zur Produkt-Compliance und zu relevanten gesetzlichen Bestimmungen.

Vereinfachte Konformitätserklärung

Illumina, Inc. erklärt hiermit, dass der Typ der Funkübertragungskomponenten im MiSeqDx-/MiSeq-Gerät der Richtlinie 2014/53/EU entspricht. Der vollständige Text der EU-Konformitätserklärung ist unter der folgenden URL abrufbar:

support.illumina.com/certificates.html

Gehen Sie wie folgt vor, um das Sicherheits- und Compliance-Handbuch, die Packungsbeilage oder sonstige Dokumentation zum Gerät herunterzuladen:

- 1 Rufen Sie support.illumina.com auf.
- 2 Navigieren Sie zum entsprechenden Produkt.
- 3 Wählen Sie in der Spalte „Documentation“ (Dokumentation) die Option „View All“ (Alle anzeigen).

Wenn Sie Fragen haben, wenden Sie sich an Ihren zuständigen Kundenbetreuer oder an den Illumina-Kundendienst.

INFORMACIÓN IMPORTANTE PARA LOS CLIENTES

ESPAÑOL

Lea la guía de cumplimiento y seguridad antes de realizar ningún procedimiento en el instrumento.

- *Guía de cumplimiento y seguridad del MiSeqDx (n.º de documento 15034477)*
- *Guía de cumplimiento y seguridad del MiSeq (n.º de documento 15027616)*

La guía proporciona información de seguridad importante relativa a la instalación, el mantenimiento y el uso del instrumento. También incluye declaraciones de normativas y de cumplimiento del producto.

Declaración de conformidad simplificada

Por la presente, Illumina, Inc. declara que el tipo de equipos de radio del instrumento MiSeqDx/MiSeq cumple con la Directiva 2014/53/UE. El texto completo de la declaración de conformidad con las normativas de la UE se encuentra disponible en la siguiente URL.

support.illumina.com/certificates.html

Para descargar la guía de cumplimiento y seguridad, el prospecto del instrumento u otra documentación relacionada con este, siga estos pasos:

- 1 Vaya a support.illumina.com.
- 2 Seleccione su producto.
- 3 En la columna **Documentation** (Documentación), seleccione **View All** (Ver todo).

Si tiene preguntas, póngase en contacto con su comercial local o con el servicio de atención al cliente de Illumina.

ВАЖНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ КЛИЕНТОВ

РУССКИЙ

Перед выполнением каких-либо процедур с прибором ознакомьтесь с руководством по безопасности и нормативно-правовому соответствию.

- *MiSeqDx Safety and Compliance Guide (руководство по безопасности и нормативно-правовому соответствию для прибора MiSeqDx) (документ № 15034477)*
- *MiSeq Safety and Compliance Guide (руководство по безопасности и нормативно-правовому соответствию для прибора MiSeq) (документ № 15027616)*

В руководстве приведена важная информация по технике безопасности касательно установки и обслуживания прибора, а также работы с ним. Также в руководстве содержится информация о соответствии изделия установленным стандартам и заявления о нормативно-правовом соответствии.

Упрощенная декларация о соответствии

Компания Illumina, Inc. настоящим заявляет, что радиооборудование, используемое в приборе MiSeqDx/MiSeq, соответствует требованиям Директивы 2014/53/ЕУ. Полный текст Европейской Декларации о соответствии доступен по следующей ссылке.

support.illumina.com/certificates.html

Для загрузки руководства по безопасности и нормативно-правовому соответствию, диска-вкладыша с информацией о приборе или иной документации касательно прибора

- 1 Откройте веб-сайт support.illumina.com.
- 2 Перейдите к интересующему вас изданию.
- 3 В колонке **Documentation** (Документация) выберите **View All** (Просмотреть все).

При возникновении вопросов обращайтесь к местному менеджеру по работе с клиентами или в службу поддержки клиентов компании Illumina.

DŮLEŽITÉ INFORMACE PRO ZÁKAZNÍKY

ČEŠTINA

Před prováděním jakýchkoli postupů s tímto přístrojem si přečtěte příručku bezpečnosti a shody s předpisy přístroje.

- *MiSeqDx Safety and Compliance Guide (Příručka bezpečnosti a shody s předpisy pro přístroj MiSeqDx) (dokument č. 15034477)*
- *MiSeq Safety and Compliance Guide (Příručka bezpečnosti a shody s předpisy pro přístroj MiSeq) (dokument č. 15027616)*

Tato příručka obsahuje důležité bezpečnostní informace, které se vztahují k instalaci, provádění údržby a provozu přístroje. Příručka zahrnuje také prohlášení o shodě produktu a regulační prohlášení.

Zjednodušené prohlášení o shodě

Společnost Illumina, Inc. tímto prohlašuje, že typ rádiového vybavení v přístroji MiSeqDx/MiSeq vyhovuje směrnici 2014/53/EU. Úplný text evropského prohlášení o shodě je k dispozici na následující adrese URL:

support.illumina.com/certificates.html

Postup stažení příručky bezpečnosti a shody s předpisy, příbalového letáku přístroje nebo další dokumentace k přístroji

- 1 Přejděte na web support.illumina.com.
- 2 Přejděte na váš produkt.
- 3 Ve sloupci **Documentation** (Dokumentace) vyberte možnost **View All** (Zobrazit vše).

Máte-li dotazy, kontaktujte místního zástupce nebo oddělení podpory zákazníků společnosti Illumina.

VAŽNE INFORMACIJE ZA KORISNIKE

HRVATSKI

Prije izvođenja postupaka na instrumentu pročitajte Vodič za sigurnost i sukladnost.

- *Vodič za sigurnost i sukladnost sustava MiSeqDx (br. dokumenta 15034477)*
- *Vodič za sigurnost i sukladnost sustava MiSeq (br. dokumenta 15027616)*

U tom su vodiču navedene važne sigurnosne informacije koje se odnose na instalaciju, servisiranje i rad instrumenta. Vodič obuhvaća i izjave o sukladnosti proizvoda te regulatorne izjave.

Pojednostavljena izjava o sukladnosti

Illumina, Inc. ovime izjavljuje da je vrsta radiopreme za instrument MiSeqDx/MiSeq u skladu s Direktivom 2014/53/EU. Cjelovit tekst Deklaracije o sukladnosti EU-a dostupan je na sljedećoj internetskoj adresi:

support.illumina.com/certificates.html

Da biste preuzeli vodič za sigurnost i sukladnost, informativni pregled instrumenta ili neku drugu dokumentaciju instrumenta,

- 1 idite na support.illumina.com.
- 2 Pronađite svoj proizvod.
- 3 U stupcu **Documentation** (Dokumentacija) odaberite **View All** (Prikaži sve).

Ako imate pitanja, obratite se lokalnom voditelju odnosa s klijentima ili službu za podršku tvrtke Illumina.

VIKTIG KUNDINFORMATION

SVENSKA

Läs säkerhets- och efterlevnadsguiden innan du använder instrumentet.

- *Säkerhets- och efterlevnadsguide för MiSeqDx (dokumentnr. 15034477)*
- *Säkerhets- och efterlevnadsguide för MiSeq (dokumentnr. 15027616)*

Dokumentet innehåller viktig säkerhetsinformation avseende installation, service och drift av instrumentet. Dokumentet innehåller även information om produktöversensstämmelse och föreskrifter.

Förenklad försäkran om överensstämmelse

Illumina, Inc. försäkrar härmed att typen av radioutrustning i instrumentet MiSeqDx/MiSeq överensstämmer med direktivet 2014/53/EU. Den fullständiga texten om EU-försäkran om överensstämmelse är tillgänglig på följande URL.

support.illumina.com/certificates.html

Använd följande anvisningar om du vill ladda ned säkerhets- och efterlevnadsguiden, instrumentets bipacksedel eller annan dokumentation som rör instrumentet.

- 1 Gå till support.illumina.com.
- 2 Navigera till produkten.
- 3 Välj **View All** (Visa alla) i kolumnen **Documentation** (Dokumentation).

Kontakta din lokala kontoansvariga eller Illuminas kundsupport om du har frågor.

VIGTIGE KUNDEOPLYSNINGER

DANSK

Læs Sikkerheds- og overensstemmelsesvejledningen, før du anvender instrumentet.

- *Sikkerheds- og overensstemmelsesvejledning til MiSeqDx (dokumentnr. 15034477)*
- *Sikkerheds- og overensstemmelsesvejledning til MiSeq (dokumentnr. 15027616)*

Vejledningen indeholder vigtige sikkerhedsoplysninger i forhold til installation, serviceeftersyn og anvendelse af instrumentet. Vejledningen indeholder også oplysninger om produktöversensstemmelse og lovmæssige anvisninger.

Forenklet overensstemmelseserklæring

Illumina, Inc. erklærer hermed, at radioudstyrstypen for MiSeqDx/MiSeq-instrumentet er i overensstemmelse med Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 2014/53/EU. Den komplette EU-overensstemmelseserklæring er tilgængelig på følgende URL-adresse.

support.illumina.com/certificates.html

Du kan downloade sikkerheds- og overensstemmelsesvejledningen, indlæggessedlen til instrumentet og anden instrumentdokumentation

- 1 Gå til support.illumina.com.
- 2 Gå til dit produkt.
- 3 I kolumnen **Documentation** (Dokumentation) skal du vælge **View All** (Vis alle).

Hvis du har spørgsmål, kan du kontakte din lokale account manager eller kundesupport hos Illumina.

BELANGRIJKE KLANTINFORMATIE

NEDERLANDS

Lees de Handleiding veiligheid en naleving voordat u werkzaamheden met het instrument uitvoert.

- *Handleiding veiligheid en naleving MiSeqDx (document # 15034477)*
- *Handleiding veiligheid en naleving MiSeq (document # 15027616)*

De handleiding biedt belangrijke veiligheidsinformatie met betrekking tot de installatie, het onderhoud en de bediening van het instrument. De handleiding bevat ook verklaringen omtrent productnaleving en regelgeving.

Vereenvoudigde conformiteitsverklaring

Illumina, Inc. verklaart hierbij dat het type radioapparatuur voor het MiSeqDx-/MiSeq-instrument overeenkomt met de richtlijn 2014/53/EU. De volledige tekst van de conformiteitsverklaring van de EU is beschikbaar via de volgende link:

support.illumina.com/certificates.html

Om de handleiding veiligheid en naleving, de bijsluiters of andere documentatie van het instrument te downloaden:

- 1 Ga naar support.illumina.com.
- 2 Blader naar uw product.
- 3 Selecteer onder de kolom **Documentation** (Documentatie) de optie **View All** (Alles weergeven).

Indien u vragen hebt, neem dan contact op met uw plaatselijke accountbeheerder of de klantenservice van Illumina.

VIKTIG KUNDEINFORMASJON

NORSK

Læs Sikkerhets- og samsvarsveiledningen før du utfører noe vedlikehold på instrumentet.

- *Sikkerhets- og samsvarsveiledning for MiSeqDx (dokumentnr. 15034477)*
- *Sikkerhets- og samsvarsveiledning for MiSeq (dokumentnr. 15027616)*

Veiledningen inneholder viktig sikkerhetsinformasjon om installasjon, vedlikehold og bruk av instrumentet. Veiledningen inneholder også samsvars- og forskriftsinformasjon.

Forenklet samsvarserklæring

Illumina, Inc. erklærer herved at radioutstyret for MiSeqDx-/MiSeq-instrumentet er i samsvar med direktiv 2014/53/EU. Den fulle teksten til EU-samsvarserklæringen finnes på følgende URL-adresse:

support.illumina.com/certificates.html

For å laste ned sikkerhets- og samsvarsveiledningen, pakningsvedlegget eller annen dokumentasjon for instrumentet

- 1 Gå til support.illumina.com.
- 2 Bla til ønsket produkt.
- 3 Velg **View All** (Vis alt) under **Documentation** (Dokumentasjon)-kolonnen.

Hvis du har spørsmål, kan du kontakte den lokale kundekontakten eller Illumina-kundestøtte.

ΣΗΜΑΝΤΙΚΕΣ ΠΑΡΟΡΟΦΟΡΕΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΠΕΛΑΤΗ

ΕΛΛΗΝΙΚΑ

Διαβάστε τον Οδηγό ασφαλείας και συμμόρφωσης πριν από την εκτέλεση οποιασδήποτε διαδικασίας στο όργανο.

- *Οδηγός ασφαλείας και συμμόρφωσης MiSeqDx (αρ. εγγράφου 15034477)*
- *Οδηγός ασφαλείας και συμμόρφωσης MiSeq (αρ. εγγράφου 15027616)*

Ο οδηγός αυτός παρέχει σημαντικές πληροφορίες ασφαλείας αναφορικά με την εγκατάσταση, το στέβισ και τη λειτουργία του οργάνου. Ο οδηγός περιέχει επίσης πληροφορίες σχετικά με τη συμμόρφωση και τις κανονιστικές δηλώσεις του προϊόντος.

Απλουστευμένη δήλωση συμμόρφωσης

H Illumina, Inc. δηλώνει ότι το παρόντος ότι ο τύπος ραδιοεξοπλισμού για το όργανο MiSeqDx/MiSeq συμμορφώνεται με την οδηγία 2014/53/ΕΕ. Το πλήρες κείμενο της δήλωσης συμμόρφωσης της ΕΕ είναι διαθέσιμο στην παρακάτω διεύθυνση URL.

support.illumina.com/certificates.html

Για τη λήψη του οδηγού ασφαλείας και συμμόρφωσης, του φύλλου οδηγιών ή οποιασδήποτε άλλου συνοδευτικού εγγράφου του οργάνου

- 1 Μεταβείτε στον ιστότοπο support.illumina.com.
- 2 Πλοηγηθείτε στο προϊόν σας.
- 3 Στη στήλη **Documentation** (Τεκμηρίωση), επιλέξτε **View All** (Προβολή όλων).

Για τυχόν ερωτήσεις, επικοινωνήστε με τον τοπικό διαχειριστή λογαριασμού ή με το τμήμα υποστήριξης πελατών της Illumina.

INFORMAÇÃO IMPORTANTE PARA O CLIENTE

PORTUGUÊS (PT)

Leia o Guia de conformidade e segurança antes de executar qualquer procedimento no instrumento.

- *Guia de conformidade e segurança do MiSeqDx (documento n.º 15034477)*
- *Guia de conformidade e segurança do MiSeq (documento n.º 15027616)*

O guia fornece informações de segurança importantes relativas à instalação, reparação e operação do instrumento. O guia também inclui declarações regulamentares e de conformidade do produto.

Declaração de conformidade simplificada

A Illumina, Inc. declara que o equipamento de tipo de rádio do instrumento MiSeqDx/MiSeq está em conformidade com a Diretiva 2014/53/UE. O texto completo da Declaração de Conformidade Europeia está disponível no seguinte URL.

support.illumina.com/certificates.html

Para transferir o guia de conformidade e segurança, o folheto informativo do instrumento ou qualquer outra documentação relativo ao instrumento

- 1 Aceda a support.illumina.com.
- 2 Navegue até ao seu produto.
- 3 Na coluna **Documentation** (Documentação), selecione **View All** (Ver tudo).

Se tiver alguma questão, contacte o seu gestor de conta local ou o Apoio ao Cliente da Illumina.

INFORMAÇÕES IMPORTANTES PARA O CLIENTE

PORTUGUÊS (BR)

Leia O Guia de segurança e conformidade antes de realizar qualquer procedimento no instrumento.

- Guia de conformidade e segurança do MiSeqDx (documento n.º 15034477)
- Guia de segurança e conformidade do MiSeq (documento n.º 15027616)

O guia oferece importantes informações de segurança em relação à instalação, manutenção e operação do instrumento. O guia também inclui declarações de conformidade e regulamentação do produto.

Declaração simplificada de conformidade

Por meio deste documento, a Illumina, Inc. declara que o tipo de equipamento de rádio para o instrumento MiSeqDx/MiSeq está em conformidade com a Diretiva 2014/53/EU. O texto completo da Declaração de Conformidade da UE está disponível no URL a seguir.

support.illumina.com/certificates.html

Para fazer o download do guia de segurança e conformidade, do folheto informativo ou de outra documentação do instrumento

1. Acesse support.illumina.com.
2. Navegue até seu produto.
3. Na coluna **Documentation** (Documentação), selecione **View All** (Visualizar tudo).

Em caso de dúvidas, entre em contato com seu gerente de conta local ou com o setor de Atendimento ao cliente da Illumina.

お客様への重要なお知らせ

日本語

装置の操作を始める前に「Safety and Compliance Guide」をお読みください。

- 「MiSeqDx Safety and Compliance Guide」(文書番号: 15034477)
- 「MiSeq Safety and Compliance Guide」(文書番号: 15027616)

このガイドは、装置の据え付け、保守点検、および運用に関する重要な安全性情報を提供します。また、このガイドは、製品のコンプライアンスおよび規制に関する記述を含んでいます。

簡易版適合宣言

イルミナ株式会社は、MiSeqDx/MiSeq装置の無線機器の種類が無線機器指令2014/53/EUに準守していることをここに宣言いたします。EU適合宣言書の全文については、次のURLからアクセスしてください:

support.illumina.com/certificates.html

安全性およびコンプライアンスガイド、装置の取扱説明書、またはその他の装置文書をダウンロードするには、

1. support.illumina.comをご覧ください。
2. お使いの製品に移動してください。
3. [Documentation] 列の [View All] を選択してください。

ご不明な点がございましたら、お近くの担当営業がイルミナカスタマーサポートまでお問い合わせください。

重要客戶信息

繁體中文

在儀器上執行任何程序之前，請先閱讀《安全及合規性指南》。

- 《MiSeqDx 安全及合規性指南》(文檔號 15034477)
- 《MiSeq 安全及合規性指南》(文檔號 15027616)

該指南提供有關儀器安裝、維護以及操作的重要安全信息。另外，還包含產品合規性和監管聲明。

簡化版合規性聲明

Illumina, Inc. 特此聲明，MiSeqDx/MiSeq 儀器的無線電設備類型符合指令 2014/53/EU。有關歐盟合規性聲明的完整內容，請訪問以下 URL。

support.illumina.com/certificates.html

要下載安全及合規性指南、儀器包裝內附的說明書或儀器的其他文檔

1. 請轉到 support.illumina.com。
2. 導航至您的產品。
3. 選擇“Documentation (文檔)”下列的“View All (查看全部)”。

如有疑問，請聯系您當地的客戶經理或 Illumina 客戶支持部門。

重要客戶資訊

繁體中文

使用儀器進行任何程序前，請先閱讀安全及合規指南。

- MiSeqDx 安全及合規指南 (文件 # 15034477)
- MiSeq 安全及合規指南 (文件 # 15027616)

本指南提供有關安裝、保養及操作儀器的重要安全資訊。本手冊也包含產品合規與法規聲明。

簡易版合規性聲明

Illumina, Inc. 特此聲明，MiSeqDx/MiSeq 儀器的無線電設備類型符合指令 2014/53/EU。有關 EU 符合性聲明的全文，可於下列網址取得。

support.illumina.com/certificates.html

若要下載安全及合規指南、儀器仿單或其他儀器文件

1. 請前往 support.illumina.com。
2. 瀏覽至您的產品。
3. 在 [Documentation (文件)] 欄下選擇 [View All (檢視全部)]。

如有任何問題，請洽您當地的客戶經理或 Illumina 客戶服務。



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California, 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (Outside North America)

techsupport@illumina.com

© 2011 Illumina, Inc. All rights reserved.
All trademarks are the property of Illumina, Inc. or their respective owners. For specific trademark information, see www.illumina.com/company/legal.html.



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

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



Document #20023370 Rev. 3

Appendix to the operating instructions for the Russian Federation	Приложение к инструкции по эксплуатации для Российской Федерации
Description of medical device and its components: «Genetic sequencer MiSeq in variants: MiSeqDx»: I. Genetic sequencer MiSeq in variants: - MiSeq; - MiSeqDx. II. Content: 1. Basic unit of the device; 2. Safety instruction; (1 pc.) 3. Operational instruction; (1 pc.) 4. Tray for washing the instrument; (2 pc.) 5. Stickers for the left panel; (2 pc.) 6. Bottle washing device, up to 500 ml; (1 pc.) 7. Bottle for draining waste liquid; (1 pc.) 8. Cap for the bottle of waste liquid drain can up to 800 ml; (1 pc.) 9. T-shaped M6 hex key, 6 inches; (1 pc.) i. T-shaped 5/64" hex key; (1 pc.) ii. Cable for connecting to the Internet network; (1 pc.) 12. Power cord; (1 pc.)	Описание медицинского изделия и его компонентов: Генетический секвенатор MiSeq в вариантах исполнения: MiSeq, MiSeqDx: I. Генетический секвенатор MiSeq в вариантах исполнения: - MiSeq; - MiSeqDx. II. В составе: 1. Базовый блок прибора; 2. Инструкция по безопасности; (1 шт.) 3. Инструкция по эксплуатации; (1 шт.) 4. Лоток для промывки прибора; (2 шт.) 5. Наклейки для левой панели; (2 шт.) 6. Бутыл для промывки прибора, до 500 мл; (1 шт.) 7. Банка для слива отработанной жидкости, до 800 мл; (1 шт.) 8. Крышка для банки для слива отработанной жидкости, до 800 мл; (1 шт.) 9. Т-образный М6 шестигранный ключ, 6 дюймов; (1 шт.) 10. Т-образный 5/64" шестигранный ключ, 6 дюймов; (1 шт.) 11. Кабель для подключения к интернету сети; (1 шт.) 12. Кабель электропитания; (1 шт.)
Developer: Illumina, Inc. 5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA Tel.: +1.858.202.4566 mail: techsupport@illumina.com	Разработчик: Иллюмина, Инк 5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, США тел. +1.858.202.4566 E-mail: techsupport@illumina.com
Name and address of the production site: Illumina, Inc. Hayward, 25861 Industrial Blvd, Hayward California 94545, USA	Наименование и адрес производственной площадки: «Иллюмина Инк.» Хейвард 25861 Индастриал бульв. Хейвард, штат Калифорния, США
Official manufacturer: Illumina, Inc. 5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA Tel.: +1.858.202.4566 E-mail: techsupport@illumina.com	Официальный производитель: «Иллюмина Инк.» 5200, Иллюмина Уэй, г. Сан-Диего, штат Калифорния, 92122, США Тел.: +1.858.202.4566 E-mail: techsupport@illumina.com
Authorized Representative in the Russian Federation:	Уполномоченный представитель в Российской Федерации

R-Pharm International LLC, 123154, Moscow, Berzarina St., 19 bld. 1, floor 1, premises V, room 9 Tel: +7 (495) 956-79-37, Fax: +7 (495) 956-79-38 e-mail: info@rpharm.ru www.r-pharm.com	ООО «Р-Фарм Интернешнл», Россия, 123154, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, корпус 1, этаж 1, помещение V, комната 9. Тел: +7 (495) 956-79-37, Факс: +7 (495) 956-79-38 e-mail: info@rpharm.ru www.r-pharm.com
Application area Clinical laboratory diagnostics.	Область применения Клиническая лабораторная диагностика.
Contraindications Not detected.	Противопоказания Не выявлены.
Possible side effects when using a medical device Not detected.	Возможные побочные действия при использовании медицинского изделия Не выявлены.
Requirements for the operator (user) MiSeqDx should only be used by qualified, trained (in the clinical laboratory diagnostics area) personnel. MiSeqDx is an in vitro diagnostic medical device for professional use only by a medical laboratory technicians (medical assistants, laboratory assistants) or clinical laboratory diagnosticians.	Требования к оператору (пользователю) Прибор MiSeqDx должен использоваться только квалифицированными подготовленными сотрудниками в области клинической лабораторной диагностики. Прибор MiSeqDx представляет собой медицинское изделие для диагностики in vitro для профессионального использования только лаборантами медицинских лабораторий (врачами-ассистентами, врачами-лаборантами) или специалистами по клинической лабораторной диагностике.
The list and description of the materials of the medical device coming into contact with the patient's body (human body) Not applicable. The components of this medical device do not come to contact with the patient's body, either directly or indirectly.	Перечень и описание материалов медицинского изделия, контактирующих с телом пациента (человеческим телом) Не применимо. Компоненты этого медицинского изделия не соприкасаются с телом пациента ни прямо, ни косвенно.
Information on pharmaceutical substances used for the final product, including principles and methods of evaluation Not applicable. This medical device does not use pharmaceutical substances.	Информация о фармацевтических субстанциях, используемых для производства готового изделия, включая принципы и методы оценки Не применимо. В данном медицинском изделии не используются фармацевтические субстанции.
Final sterilization method Not applicable. Not sterile.	Метод окончательной стерилизации Не применимо. Не стерильный.
Description of commissioning rules MiSeqDx is commissioned by a service engineer.	Описание правил введения в эксплуатацию Прибор MiSeqDx вводит в эксплуатацию инженер по эксплуатации.
An indication of the specific pathology, condition, risk factor for the detection, determination or differentiation of which the medical device is	Указание на конкретную патологию, состояние, фактор риска, для обнаружения, определения или дифференциации которых

Intended Not applicable.	предназначено медицинское устройство Не применимо.
Population, demographic aspects of the use of a medical device Not applicable.	Популяционные и демографические аспекты использования медицинского устройства Не применимо.
Information on the presence in the medical device of materials of animal and (or) human origin Not applicable.	Информация о наличии в медицинском устройстве материалов животного и (или) человеческого происхождения Не применимо.
Analytical Specificity and Sensitivity Information Not applicable. Depends on reagent kit used.	Информация об аналитической специфичности и чувствительности Не применимо. Зависит от используемого набора реагентов.
Diagnostic sensitivity and specificity information Not applicable. Depends on reagent kit used.	Информация о диагностической чувствительности и специфичности Не применимо. Зависит от используемого набора реагентов.
Medical Device Stability Information Not applicable.	Информация о стабильности медицинского устройства Не применимо.
Information on the biological reference interval for the use of a medical device Not applicable.	Информация о биологическом референтном интервале для использования медицинского устройства Не применимо.
Information on interfering substances or limitations associated with the sample that may affect the test result. Not applicable.	Информация о мешающих веществах или ограничениях, связанных с образцами, которые могут оказать влияние на результат испытания. Не применимо.
The description of key functional elements of the medical device that may be supported by charts, photographs, diagrams, and explanations The MiSeqDx Instrument is a high throughput DNA sequence analyzer for clinical use. The MiSeqDx Instrument with access doors open is shown below:	Описание основных функциональных элементов устройства, которые могут сопровождаться графиками, фотографиями, диаграммами и пояснениями Прибор MiSeqDx представляет собой секвенатор последовательностей ДНК с высокой пропускной способностью. Прибор MiSeqDx с открытыми дверцами для доступа изображен ниже:



Front view:

Вид спереди:



Back view:

Вид сзади:



The MiSeqDx Instrument performs amplification/cluster generation, sequencing and data analysis in a single instrument. MiSeqDx utilizes a pre-loaded reagent cartridge to supply all reagents for the sequencing by synthesis steps. Samples are also

Прибор MiSeqDx выполняет амплификацию/создание кластеров, секвенирование и анализ данных в одном приборе. В приборе MiSeqDx используется предварительно загруженный картридж с реагентами для подачи

loaded onto the reagent cartridge and automatically transferred to the Flow Cell at the beginning of the cluster generation process. Sequencing by synthesis is performed within a single-use Flow Cell which is imaged at each synthesis step by the instrument. Image processing and reduction to sequence data is performed on-board the instrument so no external computer is required for data analysis. Both reagent cartridge and Flow Cell carry unique RFID (Radio Frequency Identifier) tags for tracking that are read within the instrument.

You can use a keyboard and mouse to work with the sequencer.

реагентов для этапов секвенирования путем синтеза. Образцы также загружаются в картридж с реагентами и автоматически переносятся в проточную ячейку в начале процесса создания кластеров. Секвенирование путем синтеза выполняется внутри проточной ячейки однократного использования, которая визуализируется прибором на каждом этапе синтеза. Обработка и сжатие изображений с получением данных секвенирования выполняется прибором на месте, поэтому для анализа данных внешний компьютер не требуется. И картридж с реагентами, и проточная ячейка несут уникальные метки РЧИД (RFID) (радиочастотного детектора) для прослеживания их прочтения в приборе. Для работы с секвенатором может использоваться клавиатура и мышь.

Dual-Boot Configuration:

The two solid-state drive configuration, known as dual boot, allows for a physical separation of Dx workflows from RUO workflows. This configuration allows for the RUO side to be upgraded without affecting the validated workflows on the Dx side.

The advantage of this configuration change is that it physically separates the mechanisms that control the dual diagnostic and research functionality of the instrument into two discrete processes controlled by independent hardware components and software.

This hardware change was assessed to be a minor change with no impact to product safety or effectiveness.

An example is shown below:

Конфигурация двухвариантной загрузки:

Конфигурация с двумя жесткими дисками, известная как конфигурация двухвариантной загрузки, позволяет физически разделить рабочие процессы Dx и RUO. Эта конфигурация дает возможность усовершенствовать сторону RUO, не влияя на валидированные рабочие процессы на стороне Dx.

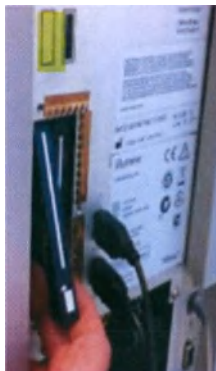
Преимущество этого изменения конфигурации состоит в том, что она позволяет физически разделить механизмы, управляющие двумя функциями — диагностической и исследовательской, — на приборе с помощью двух дискретных процессов, управляемых независимыми компонентами аппаратного и программного обеспечения.

Данное изменение аппаратного обеспечения считают незначительным с точки зрения безопасности или эффективности изделия.

Пример приведен ниже:

Left slot is for the IVD SSD:

Паз слева предназначен для IVD SSD:



Right slot is for the RUO SSD:

Паз справа предназначен для RUO SSD:



Hardware Description:

The MiSeqDx Instrument consists of six major hardware sub-systems that interact to provide the operational functionality of the system consisting of:

- Imaging module
- RFID system
- Flow Cell holder
- Fluidics system
- Reagent chiller
- E-box
- Touchscreen user interface

Описание аппаратного обеспечения:

Прибор MiSeqDx состоит из шести основных подсистем аппаратного обеспечения, взаимодействие которых обеспечивает функционирование системы, состоящей из:

- Модуль изображений
- Система РЧИД (RFID)
- Держатель проточной ячейки
- Система струйной автоматики
- Охладитель реагентов
- Электрический блок управления
- Пользовательский интерфейс с сенсорным экраном

MiSeqDx Operation Details:

The MiSeqDx Instrument requires limited user interaction to operate and commence a sequencing run as outlined in the Figure: Operating Performed by the User. The user must load the Flow Cell, wash solution PR2 bottle and the reagent cartridge onto the instrument and empty the waste bottle. The system then automatically initializes the fluidics and optics, performs cluster generation, and commences the sequencing by synthesis cycles while acquiring data.

You can use a keyboard and mouse to work with the sequencer.

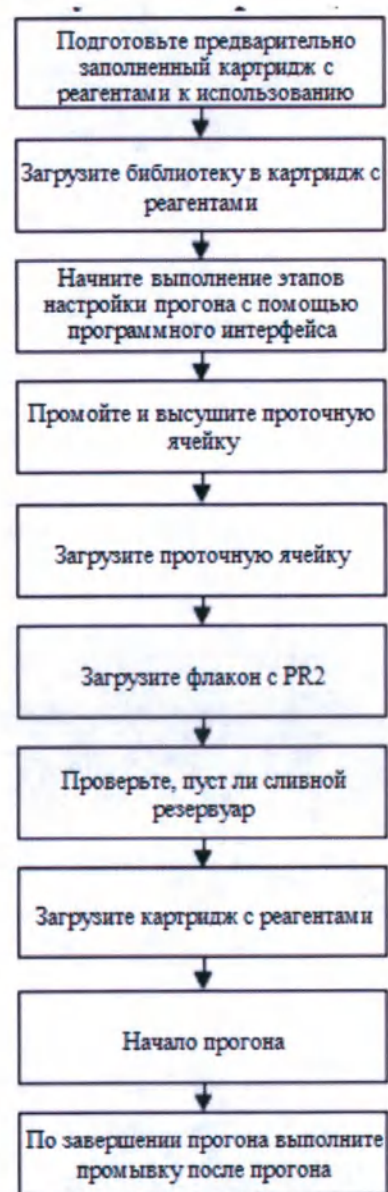
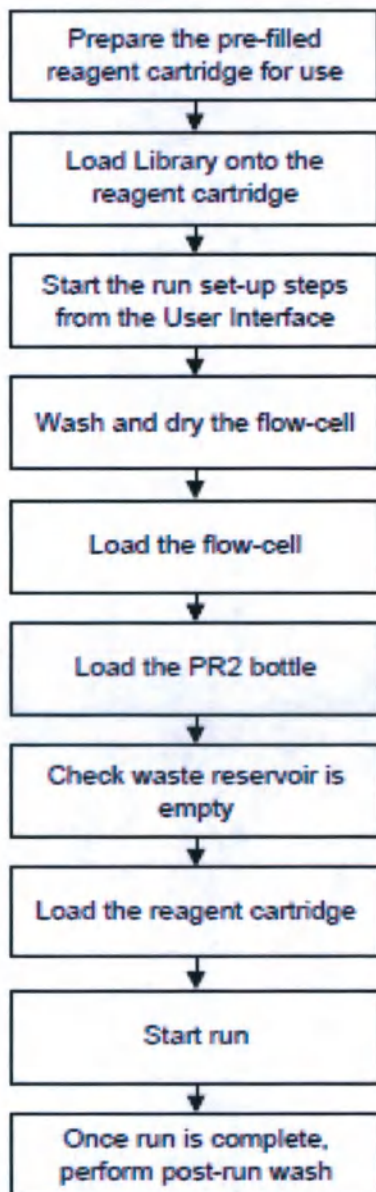
Сведения о работе прибора MiSeqDx:

Для работы прибора MiSeqDx и запуска прогона секвенирования требуется ограниченное участие пользователя, как показано на рисунке: операции, выполняемые пользователем. Пользователь должен загружать в прибор проточную ячейку, флакон с моющим раствором PR2 и картридж с реагентами и опорожнять сливную емкость. Затем система автоматически запускает систему струйной автоматики и оптическую систему, выполняет создание кластеров и начинает секвенирование посредством циклов синтеза с регистрацией данных.

Для работы с секвенатором может использоваться клавиатура и мышь.

Figure: Operating Performed by the User

Рисунок: Операции, выполняемые пользователем



Loading the Flow Cell:

ie MiSeqDx has a mechanism that moves the Flow Cell-holder into an exposed position to permit easy loading of the Flow Cell. The Flow Cell holder and Flow Cell have physical features that preclude incorrect part orientation.

The instrument contains an RFID reader that is used to identify the Flow Cell type and ensuring that the correct Flow Cell is being used.

Post-Run Operations:

Empty waste bottle

Unload Flow Cell

Unload reagent cartridge

Загрузка проточной ячейки:

В приборе MiSeqDx имеется механизм, перемещающий держатель проточной ячейки в открытое положение, позволяющий легко загружать проточную ячейку. Физические характеристики держателя проточной ячейки и проточной ячейки препятствует некорректной ориентации детали.

Прибор содержит ридер РЧИД, который используется для идентификации типа проточной ячейки и обеспечивает корректное использование проточной ячейки.

Операции, выполняемые после прогона:

Опорожните сливную емкость

Выгрузите проточную ячейку

Выгрузите картридж с реагентами

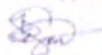
The instrument is calibrated in the following cases: 1. During the installation and qualification of the instrument. 2. 1 time a year as part of preventive maintenance of instrument. 3. After any maintenance work on the instrument. 4. After any movement of the instrument. The specific service equipment is required to calibrate the instrument, and calibration is performed by qualified Illumina personnel (Field Service Engineer). There is no end-user calibration of the system. During installation of the platform, a company representative (Field Applications Scientist) begins a series of tests to validate the performance of the instrument subsystems, which include optical alignment, fluidic delivery, and thermal calibration, among others. In the case of a test failure, the MiSeqDx company representative uses a set of instrument-specific tools to adjust and/or repair the instrument to meet operational specifications. Re-calibration occurs during the preventive maintenance visit.	Калибровку прибора выполняют в следующих случаях: 1. Во время установки и квалификации прибора. 2. 1 раз в год в рамках профилактических мероприятий по техническому обслуживанию прибора. 3. После выполнения любых действий по ремонту и техническому обслуживанию прибора. 4. После перестановки прибора в другое место. Для калибровки прибора требуется специальное оборудование для технического обслуживания, и ее проводят квалифицированные специалисты компании Illumina (инженер по техническому обслуживанию, работающий на выезде). Конечный пользователь не выполняет калибровку системы. При установке платформы представитель компании (научный сотрудник по эксплуатации) начинает проведение серии испытаний по валидации эксплуатационных характеристик подсистем прибора, которые включают среди прочего юстировку оптических компонентов и калибровку подачи жидкости и температурного режима. Если испытания не пройдены, представитель компании по обслуживанию прибора MiSeqDx использует набор инструментов, предназначенных для данного прибора, чтобы отрегулировать и/или отремонтировать прибор таким образом, чтобы он соответствовал эксплуатационным техническим характеристикам. Повторную калибровку проводят в ходе профилактического обслуживания.
Manufacturer's Accompanying Information for the Product Packing description The MiSeq Dx Instrument final packaging preparation is outlined below: A thank you card is added to the final product as shown below:	Сопровождающая информация производителя для изделия Описание упаковки Подготовка окончательной упаковки прибора MiSeq Dx описана ниже:



Thank you

Congratulations on the purchase of your new Illumina® system. We hope you enjoy your experience and thank you for being part of the Illumina community.

With appreciation,

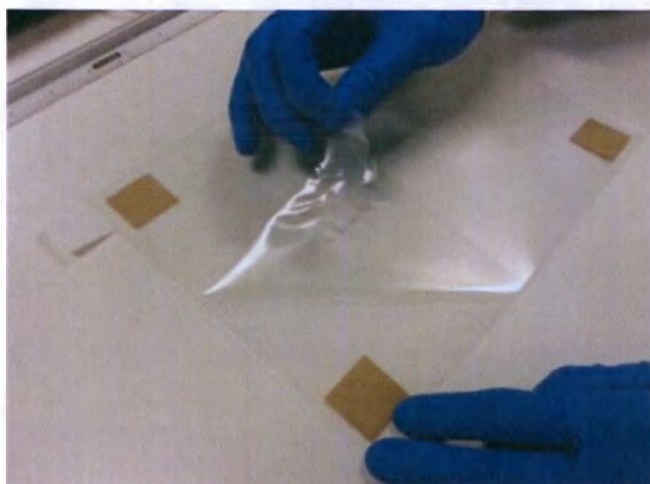


Francis deSouza, CEO
Illumina, Inc.



A monitor protective screen is added as shown below:

Добавлен защитный экран монитора, как показано ниже:



The MiSeq Dx Instrument gets covered from top to bottom using an antistatic Polyethylene bag, as outlined in Instrument Covered by Polyethylene Bag below.

Прибор MiSeq Dx покрывают сверху вниз с помощью антистатического полиэтиленового пакета, описанного в разделе «Прибор, покрытый полиэтиленовым пакетом» ниже.



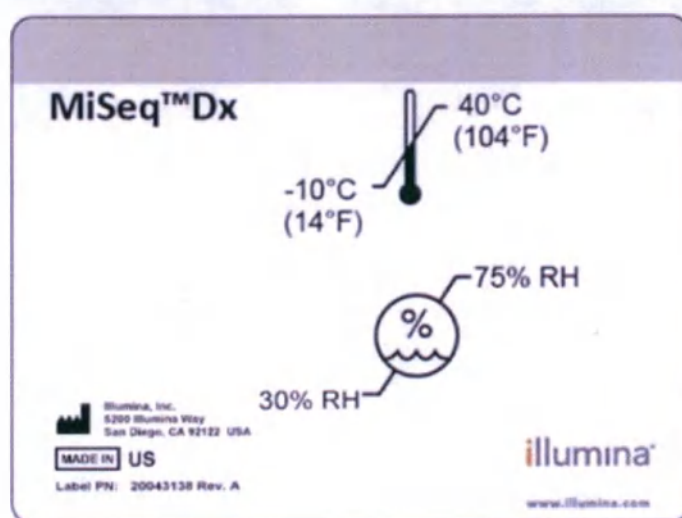
Foam is installed around the instrument as it shown below:

Вокруг прибора устанавливается пена, как показано ниже:



An approved status label and other labels are placed on the create, as shown below:

Одобренная надлежащая маркировка и другие этикетки размещаются на изделии, как показано ниже:



Environmental transport and storage packaging label

Экологическая этикетка для транспортировки и хранения



Product labeling

The MiSeqDx immediate labels are shown in Figure: MiSeqDx Product Labels.

Figure: MiSeqDx Product Labels

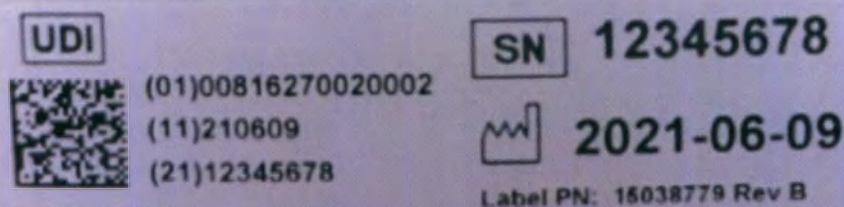
Product label

Маркировка прибора

Непосредственные этикетки MiSeqDx показаны на рисунке: маркировка прибора MiSeqDx.

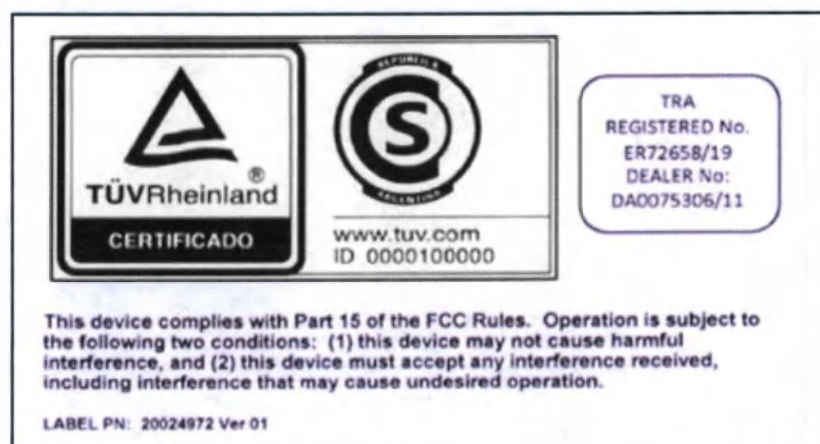
Рисунок: маркировка прибора MiSeqDx

Маркировка прибора



Compliance Label

Маркировка соответствия стандартам



Labeling with the name of the medical device in different languages	Маркировка с наименованием медицинского изделия на разных языках
---	--

EN: Next-generation sequencing (NGS) analyzer

FR: Analyseur de séquençage nouvelle génération (SNG)

IT: Analizzatore per il sequenziamento di nuova generazione
(Next-Generation Sequencing, NGS)

DE: NGS-Analysesystem (Next-Generation Sequencing,
Sequenzierung der nächsten Generation)

ES: Analizador de secuenciación de nueva generación (NGS)

Label MN: 20051850.A

illumina

In addition to the product labels the MiSeqDx product includes the following labeling:

Safety instruction:

Safety and Compliance Guide - PN 15034477-04

Operational instruction:

Operational instruction – PN 1000000021963

The MiSeqDx Instrument operational manual includes the Intended Use, detailed instructions for use, and lists all reagents and consumables required to operate the instrument as intended.

MiSeqDx Instrument Reference Guide for MOS v2 – PN 1000000021961

The MiSeqDx Instrument reference guide provides more detailed instructions, technique tips and helpful hints to newly trained users to help guide proper execution of the experimental protocol. This document serves as a supplement and is not meant to replace the package insert.

Software Reference Guide for MiSeqDx, Local Run Manager – PN 100000001180

The MiSeqDx Instrument software guide provides an overview of the software workflows on the instrument, instructions on how to set up a sequencing run, and other related activities.

Site Prep Guide for Instruments with Dual Boot Configuration - PN 15070066–04

В дополнение к маркировке прибора MiSeqDx включает следующую маркировку:

Инструкция по безопасности:

Инструкция по безопасности и соответствия требованиям - PN 15034477–04

Инструкция по эксплуатации:

Инструкция по эксплуатации PN 1000000021963

Инструкция по эксплуатации прибора MiSeqDx включает в себя назначение, подробные инструкции по применению и перечисляет все реагенты и расходные материалы, необходимые для работы прибора в соответствии с назначением.

Справочное руководство прибора генетический секвенатор MiSeqDx для MOS в. 2 PN 1000000021961

Справочное руководство для прибора MiSeqDx содержит более подробные инструкции, советы по технике и полезные советы для недавно обученных пользователей, которые помогут правильно выполнить экспериментальный протокол. Этот документ служит дополнением и не предназначен для замены Инструкции по эксплуатации.

Справочное руководство к генетическому секвенатору MiSeqDx, программный модуль Local Run Manager - PN 100000001180

Справочное руководство к генетическому секвенатору MiSeqDx содержит обзор рабочих процессов программного обеспечения на приборе, инструкции по установке прогона секвенирования и другие связанные действия.

Руководство по подготовке места установки приборов с конфигурацией многовариантной загрузки - PN 15070066–04

Instrument Insert, document – PN 1000000042884		Вкладыш для прибора, документ – PN 1000000042884	
Appendix to the operating instructions		Приложение к Инструкции по эксплуатации	
Additional marking for the Russian Federation		Дополнительная маркировка для Российской Федерации	
		«Генетический секвенатор MiSeq, вариант исполнения: MiSeqDx» <u>Регистрационное удостоверение</u> № РЗН 2014/1568 от 29.04.2014 г. Номер серии, дата производства, графические символы указаны на оригинальном стикере и упаковке. Только для диагностики in vitro. Для профессионального применения. <u>Производитель:</u> «Иллюмина Инк.», США «Иллюмина, Инк.» (Illumina, Inc.), зарегистрированная по адресу: 5200, Иллюмина Уэй, г. Сан-Диего, штат Калифорния, 92122, США (5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA) <u>Уполномоченный представитель производителя:</u> ООО «Р-Фарм Интернешнл» Россия, 123154, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, корпус 1, этаж 1, помещение V, комната 9 Телефон: +7 (495) 956-79-37, Факс: +7 (495) 956-79-38 e-mail: info@rpharm.ru	
<i>* The final version of the label can be changed at the discretion of the manufacturer</i>		<i>*Окончательная версия этикетки может быть изменена по усмотрению производителя</i>	
Technical parameters and specifications of components and accessories		Технические характеристики и спецификации компонентов и принадлежностей	
I. «Genetic sequencer MiSeq variant: MiSeqDx»		I. «Генетический секвенатор MiSeq в варианте исполнения MiSeqDx»	
			
MiSeqDx instrument is intended for targeted sequencing of DNA libraries from human genomic DNA extracted from peripheral whole blood or formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue, when used with in vitro diagnostic (IVD) assays performed on the instrument.		Прибор MiSeqDx предназначен для целевого секвенирования библиотек ДНК из геномной ДНК человека, выделенной из цельной периферической крови или из фиксированной в формалине и залитой в парафин (далее FFPE от formaldehyde fixed-paraffin embedded) ткани при использовании в диагностике in vitro (IVD, от in vitro diagnostic), выполняемой на этом приборе.	
Number: 1 pcs.		Количество: 1 шт.	
Width: 68.6 cm ± 10% Depth: 56.5 cm ± 10% Height: 52.3 cm ± 10% Weight: 57.2 kg ± 10%		Ширина: 68,6 см ± 10 % Глубина: 56,5 см ± 10 % Высота: 52,3 см ± 10 % Масса: 57,2 кг ± 10 %	

Instrument Internal Computer: Central Processor: Intel Core i7-2710QE 2.10 Memory 16 GB RAM Hard Drive (Solid-State, 2x): 1 TB each Operating Systems: Windows 7 embedded Light Emitting Diode (LED): Green excitations 530 nm Red-excitations 630 nm Power Requirements: Line Supply 100–240 VAC @ 50/60Hz Peak Current 10 A Maximum consumption power 400W Radio Frequency Identifier (RFID): Frequency 13.56 MHz Power 100 mW	Встроенный компьютер прибора: Центральный процессор: Intel Core i7-2710QE 2.10 Память 16 ГБ RAM Жесткий диск (Solid-State, 2x): 1 ТБ каждый Операционные системы: встроенная Windows 7 Светоизлучающий диод (СИД): Возбуждение зеленой флуоресценции 530 нм Возбуждение красной флуоресценции 630 нм Требования к электропитанию: Линия электропитания 100–240 В перем. тока @ 50/60 Гц Амплитуда тока 10 А Максимальная потребляемая мощность 400 Вт Радиочастотный детектор (РЧИД): Частота: 13,56 МГц Мощность 100 мВт
--	---

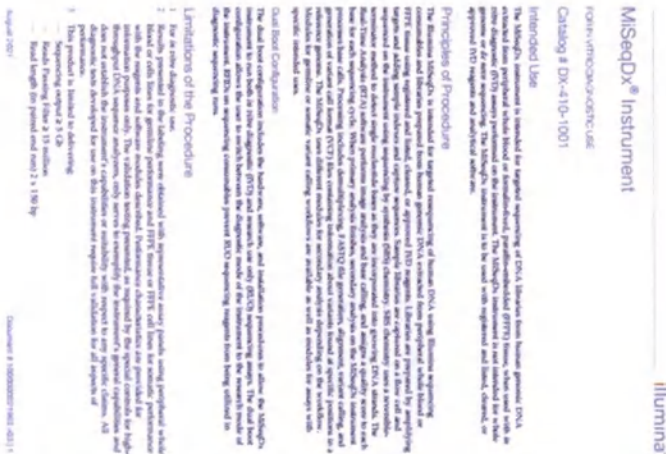
II. Includes:	II. В составе:
Basic unit of the device	1. Базовый блок прибора

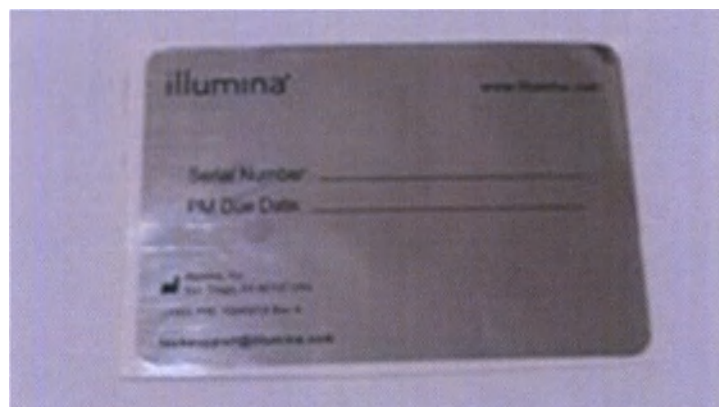


Number: 1 pcs.	Количество: 1 шт.
2. Safety instruction	2. Инструкция по безопасности



This guide provides compliance markings, regulatory statements and safety information pertaining to the installation, servicing, and operation. Paper, white colour.	В данной инструкции представлены маркировки соответствия требованиям и информация по безопасности, относящаяся к установке, обслуживанию и работе прибора. Бумага, цвет белый
---	--

Number: 1 pcs.	Количество: 1 шт.
3. Operational instruction	3. Инструкция по эксплуатации
	
...struction for customers using the instrument. Paper, white colour. Number: 1 pcs.	Инструкция для пользователя, использующих прибор. Бумага, цвет белый. Количество: 1 шт.
4. Tray for washing the instrument	4. Лоток для промывки прибора
	
Description: Tray for washing the instrument Number: 2 pcs. Length: 21 cm ± 10% Height: 9,3 cm ± 10% Width: 8 cm ± 10% Weight: 355 g ± 10%	Описание: Лоток для промывки прибора Количество: 2 шт. Длина: 21 см ± 10 % Высота: 9,3 см ± 10 % Ширина: 8 см ± 10 % Вес: 355 г ± 10 %
5. Stickers for the left panel	5. Наклейки для левой панели



Description:

Stickers for the left panel

Number: 2 pcs.

Length: 8 cm $\pm$ 10%

Width: 5,2 cm $\pm$ 10%

Weight: 5 g $\pm$ 10%

Описание:

Этикетки для левой панели

Количество: 2 шт.

Длина: 8 см $\pm$ 10 %

Ширина: 5,2 см $\pm$ 10 %

Вес: 5 г $\pm$ 10 %

6. Bottle washing device

6. Бутылка для промывки прибора



Description:

Bottle for washing solution

Number: 1 pcs.

Bottle:

Volume: up to 500 ml

Length: 17,5 cm $\pm$ 10%

Height: 7,6 cm $\pm$ 10%

Width: 7,6 cm $\pm$ 10%

Weight: 86 g $\pm$ 10%

Cap:

Diameter: 4 cm

Описание:

Бутылка для моющего раствора

Количество: 1 шт.

Флакон:

Объем: до 500 мл

Длина: 17,5 см $\pm$ 10 %

Высота: 7,6 см $\pm$ 10 %

Ширина: 7,6 см $\pm$ 10 %

Вес: 86 г $\pm$ 10 %

Крышка:

Диаметр: 4 см

7. Bottle for draining waste liquid

7. Банка для слива отработанной жидкости



Description:

Bottle for draining waste liquid

Number: 1 pcs.

Volume: up to 800 ml

Length: 17,5 cm $\pm$ 10%

Height: 9,5 cm $\pm$ 10%

Width: 9,5 cm $\pm$ 10%

Weight: 91 g $\pm$ 10%

Описание:

Банка для слива отработанной жидкости

Количество: 1 шт.

Объем: до 800 мл

Длина: 17,5 см $\pm$ 10 %

Высота: 9,5 см $\pm$ 10 %

Ширина: 9,5 см $\pm$ 10 %

Вес: 91 г $\pm$ 10 %

8. Cap for the bottle of waste liquid drain can

8. Крышка для банки для слива отработанной жидкости



Description:

Cap used with Bottle for draining waste liquid

Number: 1 pcs.

Volume: up to 800 ml

Diameter: 6,8 cm $\pm$ 10%

Height: 1,7 cm $\pm$ 10%

Weight: 17 g $\pm$ 10%

Описание:

Крышка используется с банкой для слива отработанной жидкости

Количество: 1 шт.

Объем: до 800 мл

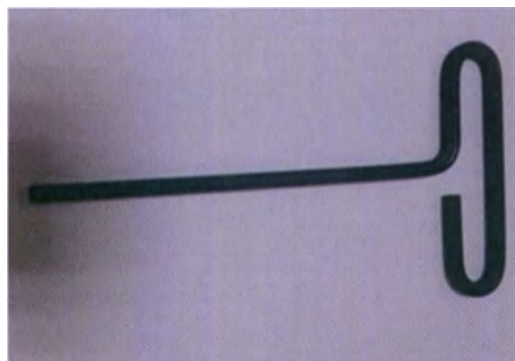
Диаметр: 6,8 см $\pm$ 10 %

Высота: 1,7 см $\pm$ 10 %

Вес: 17 г $\pm$ 10 %

9. T-shaped M6 hex key

9. Т-образный М6 шестигранный ключ, 6 дюймов



Description:

T-shaped M6 hex key, 6 inches
M6 hex key used to unlock shipping locks

Number: 1 pcs.

Length: 18 cm $\pm$ 10%
Width: 10,3 cm $\pm$ 10%
Diameter: 0,6 cm $\pm$ 10%
Weight: 88 g $\pm$ 10%

Описание:

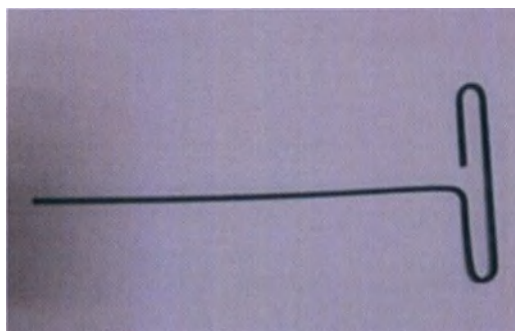
Т-образный М6 шестигранный ключ, 6 дюймов
Шестигранный ключ М6 используется для разблокировки транспортных фиксаторов

Количество: 1 шт.

Длина: 18 см $\pm$ 10 %
Ширина: 10,3 см $\pm$ 10 %
Диаметр: 0,6 см $\pm$ 10 %
Вес: 88 г $\pm$ 10 %

10. T-shaped 5/64 " hex key

10. Т-образный 5/64" шестигранный ключ



Description:

T-shaped 5/64 " hex key, 6 inches
5/64 hex key used to unlock Z-axis lock

Number: 1 pcs.

Length: 16,5 cm $\pm$ 10%
Width: 7,5 cm $\pm$ 10%
Diameter: 0,2 cm $\pm$ 10%
Weight: 11 g $\pm$ 10%

Описание:

Т-образный 5/64" шестигранный ключ, 6 дюймов
Шестигранный ключ 5/64" используется для разблокировки оси Z

Количество: 1 шт.

Длина: 16,5 см $\pm$ 10 %
Ширина: 7,5 см $\pm$ 10 %
Диаметр: 0,2 см $\pm$ 10 %
Вес: 11 г $\pm$ 10 %

11. Cable for connecting to the Internet network

11. Кабель для подключения к интернет сети



Description:

Cable for connecting to the Internet network

Number: 1 pcs.

Cable:

Length: 3 m $\pm$ 10%

Diameter: 0,6 cm $\pm$ 10%

Connector (RJ45):

Length: 4,5 cm $\pm$ 10%

Height: 0,6 cm $\pm$ 10%

Width: 1 cm $\pm$ 10%

Weight: 89 g $\pm$ 10%

Описание:

Кабель для подключения к интернет сети

Количество: 1 шт.

Кабель:

Длина: 3 м $\pm$ 10 %

Диаметр: 0,6 см $\pm$ 10 %

Коннектор (RJ45):

Длина: 4,5 см $\pm$ 10 %

Высота: 0,6 см $\pm$ 10 %

Ширина: 1 см $\pm$ 10 %

Вес: 89 г $\pm$ 10 %

12. Power cord

12. Кабель электропитания



Description:

Region specific power cord. Used for system connection to power supply

Number: 1 pcs.

Length: 2,5 m $\pm$ 10%

Diameter: 0,7 cm $\pm$ 10%

Connector: (IEC C13)

Weight: 276 g $\pm$ 10%

Описание:

Кабель электропитания для данного региона. Используется для подключения прибора к электросети

Количество: 1 шт.

Длина: 2,5 м $\pm$ 10 %

Диаметр: 0,7 см $\pm$ 10 %

Коннектор: (IEC C13)

Вес: 276 г $\pm$ 10 %

Manufacturer's Warranty

The manufacturer guarantees the safety of the medical product, the absence of unacceptable risk of harm to life, human health and the environment when using the medical product for its intended purpose under the conditions stipulated by the manufacturer.

Life time

It is anticipated that with annual Preventative Maintenance (PM) and service support the instrument will meet a 10-year service life.

The MiSeqDx Instrument does not have any shelf life limitations.

Environmental Protection

At operation and storage MiSeqDx has no negative impact on the patient, medical staff and the environment while respecting the rules specified in the operators Manual.

MiSeqDx Specifications

Instrument Internal Computer	
Central Processor	Intel Core i7-2710QE 2.10
Memory	16 GB RAM
Hard Drive (Solid-State, 2x)	1 TB each
Operating System	Windows 7 embedded
Operating Environment	
Temperature	19 – 25°C
Humidity	30-75% Non-condensing
Altitude	< 2000m (6,500 ft)
Air Quality	Pollution degree rating II
Ventilation	Maximum of 1,364 BTU/h
Light Emitting Diode (LED)	
Green excitation	530 nm
Red excitation	630 nm
Dimensions	
Instrument	
Width	68.6 cm (27.0 in)
Depth	56.5 cm (22.2 in)
Height	52.3 cm (20.6 in)
Weight	57.2 kg (126lbs)
Crated	
Width	72.4 cm (28.5 in)
Depth	83.8 cm (33 in)
Height	76.8 cm (30.25 in)

Гарантия производителя

Производитель гарантирует безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска вреда жизни и здоровью человека и окружающей среде при использовании данного медицинского изделия по прямому назначению в условиях, обозначенных производителем.

Срок годности

Ожидается, что при ежегодном профилактическом обслуживании и технической поддержке срок службы прибора составит 10 лет.

Прибор MiSeqDx не имеет ограничений по сроку годности.

Защита окружающей среды

При эксплуатации и хранении прибор MiSeqDx не оказывает отрицательного влияния на пациента, медицинский персонал и окружающую среду при условии соблюдения правил, обозначенных в руководстве пользователя.

Спецификации прибора MiSeqDx

Встроенный компьютер прибора	
Центральный процессор	Intel Core i7-2710QE 2.10
Память	16 ГБ RAM
Жесткий диск (Solid-State, 2x)	1 TB каждый
Операционная система	Встроенная Windows 7
Условия работы	
Температура	19–25 °C
Влажность	30–75 % без образования конденсата
Высота над уровнем моря	<2000 м (6500 фт)
Качество воздуха	Степень загрязнения II класса
Вентиляция	Максимум 1364 БТЕ/ч
Светоизлучающий диод (СИД)	
Возбуждение флуоресценции зеленой	530 нм
Возбуждение флуоресценции красной	630 нм
Габариты	
Прибор	
Ширина	68,6 см (27,0 дюймов)
Глубина	56,5 см (22,2 дюйма)
Высота	52,3 см (20,6 дюйма)

Weight	90.9 kg (200 lbs.)
Power Requirements	
Line Supply	100–240 VAC @ 50/60Hz
Peak Current	10 A
Power	400W
Radio Frequency Identifier (RFID)	
Frequency	13.56 MHz
Power	100 mW
Product Safety and Compliance	
NRTL Certified IEC 61010-1	
CE marked	
FCC/IC approved	
Software Application	
MiSeq Operating Software (MOS)	The MOS software application manages the operation of the instrument during sequencing and generates images for use by Real-Time Analysis (RTA) software.
MOS version	v.2.2.4.3 and higher
Real-time Analysis Software (RTA)	The RTA software application converts the images generated by MOS for each tile per cycle of the sequencing run into base call files, which are inputs for Local Run Manager analysis modules. The RTA software application does not contain a user interface.
RTA version	1.18.54.3 and higher
Local Run Manager	The Local Run Manager software is an on-instrument integrated solution for user management, executing secondary analysis, and monitoring status.
Local Run Manager version	1.4.5. 0 and higher
Somatic Variant Module	This Local Run Manager analysis module software processes base calls through secondary analysis. The processing includes demultiplexing, FASTQ file generation, alignment, variant calling, and reporting. The variant caller (Pisces) generates VCF files that contain information about variants found at specific positions in a reference genome and includes the measured variant frequency.
Somatic Variant Module version	1.1.0.146 and higher
Germline Variant Module	This Local Run Manager analysis module software processes base calls through secondary analysis. The processing includes demultiplexing, FASTQ file generation, alignment, variant calling, and reporting. The variant caller (Pisces) generates VCF files that contain information about

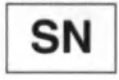
Масса	57,2 кг (126 фунтов)
В упакованном виде	
Ширина	72,4 см (28,5 дюйма)
Глубина	83,8 см (33 дюйма)
Высота	76,8 см (30,25 дюйма)
Масса	90,9 кг (200 фунтов)
Требования к электропитанию	
Электропитание	100–240 В перем. тока @ 50/60 Гц
Амплитуда тока	20 А
Потребляемая мощность	400 Вт
Радиочастотный детектор (РЧИД (RFID))	
Частота	13,56 МГц
Мощность	100 мВт
Безопасность изделия и соответствие требованиям	
NRTL Сертификат IEC 61010–1	
Маркировка CE	
Утверждено FCC/IC	
Программное приложение	
Операционное программное обеспечение MiSeq (MiSeq Operating Software, MOS)	Программное приложение MOS управляет работой прибора в процессе секвенирования и генерирует изображения, используемые программным обеспечением анализа в режиме реального времени (Real-Time Analysis, RTA).
Версия MOS	Версия 2.2.4.3 и выше
Программное обеспечение анализа в режиме реального времени (RTA)	Программное приложение RTA преобразует изображения, генерируемые MOS для каждой ячейки на прогон цикла секвенирования, в файлы распознавания азотистых оснований, которые являются файлами ввода для модулей анализа локального менеджера прогона (Local Run Manager). Программное приложение RTA не включает в себя пользовательский интерфейс.
Версия RTA	1.18.54.3 и выше
Локальный менеджер прогона (Local Run Manager)	Программное обеспечение «Локальный менеджер прогона» (Local Run Manager) представляет собой систему, встроенную в процесс работы прибора, для управления пользователем, выполнения дополнительного анализа и мониторинга состояния.
Версия Local Run Manager	1.4.5.0 и выше
Модуль для	Этот модуль анализа

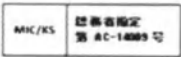
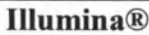
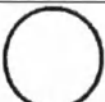
	variants found at specific positions in a reference genome and identifies each variant as heterozygous or homozygous.	соматических вариантов (Somatic Variant Module)	программного обеспечения «Локальный менеджер прогона» (Local Run Manager) выполняет обработку распознавания азотистых оснований посредством дополнительного анализа. Обработка включает демультимплексирование, генерирование файла FASTQ, выравнивание, определение вариантов и создание отчета. Программа определения вариантов (Pisces) генерирует файлы VCF, содержащие информацию о вариантах, обнаруженных в конкретных положениях референсного генома, и включает в себя определение частоты вариантов.
Germline Variant Module version	1.1.0.67 and higher	Версия Somatic Variant Module	1.1.0.146 и выше
Storage capacity	approximately 550 GB	Модуль для герминальных вариантов (Germline Variant Module)	Этот модуль анализа программного обеспечения «Локальный менеджер прогона» (Local Run Manager) выполняет обработку распознавания азотистых оснований посредством дополнительного анализа. Обработка включает демультимплексирование, генерирование файла FASTQ, выравнивание, определение вариантов и создание отчета. Программа определения вариантов (Pisces) генерирует файлы VCF, содержащие информацию о вариантах, обнаруженных в конкретных положениях референсного генома, и определяет каждый вариант как гетерозиготу или гомозиготу
Number of concurrent tests	1	Версия Germline Variant Module)	1.1.0.67 и выше
Product Performance		Емкость памяти	примерно 550 ГБ
Number of flow cells	1	Количество одновременно выполняемых тестов	1
Reads per Run	≥ 15 million	Рабочие характеристики изделия	
Maximum Read Length in Diagnostic Mode (in paired end run)	2 x 150 bp	Количество проточных ячеек	1
Sequencing output	≥ 5 Gb	Количество прочтений за один прогон	≥ 15 млн
The number of types of fluorescently labeled nucleotides supplied to the reaction module in each sequencing cycle	Not less than 4	Максимальная длина прочтения в диагностическом режиме (при прогоне секвенирования по типу парно-концевого прочтения)	2 x 150 п. о.
Standard lengths of readable DNA fragments when reading from both ends	2x75, 2x150 bp	Выход секвенирования	≥ 5 ГБ
Q30 score (at read length of 2x150bp)	≥ 80%		
The number of clusters of DNA molecules formed during sequencing from one end of the fragment	12-15 millions		
The number of clusters of DNA molecules formed during sequencing from both ends of the fragment	24-30 millions		
The number of identical DNA molecules forming one cluster	More than 1000		
Samples per Run	8-96 samples/run depending on assay		
Run duration	Depending on the version of MiSeqDx reagents, the MiSeqDx can perform a paired-end sequencing run up to 2 x 301 sequencing cycles.		
The maximum number of amplicons analyzed within one sample in one run	1 536		
Maximum number of amplicons analyzed per system start	147 456		

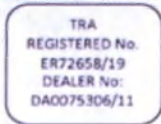
	Количество типов флуоресцентно меченных нуклеотидов, подаваемых в реакционный модуль в каждом цикле секвенирования	Не менее 4
	Стандартные длины читаемых фрагментов ДНК при прочтении с обоих концов	2x75, 2x150 пар оснований
	Базы Q30 (при длине прочтения 2x150 п. о.)	≥80 %
	Количество кластеров молекул ДНК, образующихся в процессе секвенирования с одного конца фрагмента	12–15 млн
	Количество кластеров молекул ДНК, образующихся в процессе секвенирования с обоих концов фрагмента	24–30 млн
	Количество одинаковых молекул ДНК, образующих один кластер	Более 1000
	Максимальное количество ампликонов, анализируемых внутри одного образца за один запуск	8–96 образцов в зависимости от вида анализа
	Продолжительность прогона	В зависимости от версии реагентов MiSeqDx прибор MiSeqDx может выполнять прогон парно-концевого секвенирования до 2 x 301 циклов секвенирования.
	Максимальное количество ампликонов, анализируемых внутри одного образца за один запуск	1536
	Максимальное количество ампликонов, анализируемых за один запуск системы	147 456

List of national and international rules / standards to which the medical device complies / Перечень национальных и международных правил/стандартов, которым соответствует медицинское изделие

Symbol Table / Таблица символов

Labels / Маркировка	Description / Описание
	Fragile. Caution / Хрупкое, обращаться осторожно
	Keep away from moisture / Беречь от влаги
	Up / Верх
	Manufacturer / Изготовитель
	In vitro Diagnostic Medical Device / Медицинское изделие для диагностического применения in vitro
	Catalog Number / Номер по каталогу
	Serial Number / Серийный номер
	European Union Conformity / Соответствие требованиям Европейского союза
	Authorized representative in the European Community / Уполномоченный представитель в Европейском сообществе
	Refer to the instructions for use / Обратитесь к инструкции по применению
	Production date / Дата изготовления
	Certification authority TUV Rheinland / Орган по сертификации «ТЮФ Рейнланд» (TUV Rheinland)

	Danger warning / Осторожно! Обратитесь к инструкции по применению
	Do not dispose with household waste / Не выбрасывать вместе с бытовыми отходами
	Korea Certification / Сертификация в Корее
	Barcode / Баркод
	Ukrainian standards and regulatory documents Conformity / Соответствие стандартам и регуляторным документам Украины
	C-Tick Compliant / Соответствует C-Tick
	Serbian mark of conformity / Сербский знак соответствия
	Compliance with Brazilian industry standards / Соответствие бразильским отраслевым стандартам
	NCC mark and approval number / Знак NCC и номер одобрения
	Vietnamese mark of conformity / Вьетнамский знак соответствия
	Compliance logo to the Radio frequency requirements governed by the Ministry of Internal Affairs and Communications (MIC) of Japan / Соответствие логотипа требованиям радиочастот, регулируемым Министерством внутренних дел и связи (МИС) Японии
	Logotip of Company / Логотип компании
	EAC compliance / Соответствие стандартам EAC
	alternating current / переменный ток
	Off / Выключено

	On / Включено
	Humidity Range (on packaging: indicates acceptable shipping and storage limits) / Диапазон влажности (на упаковке: указывает на приемлемую доставку и пределы хранения)
	Temperature Range (on packaging: indicates acceptable shipping and storage limits) / Диапазон температуры (на упаковке: указывает на приемлемую доставку и пределы хранения)
	General Safety Warnings / Общее предупреждение по безопасности
	Electrical Safety Warnings / Предупреждения по электробезопасности
	Protective Earth / Защитное заземление
	Hot Surface Safety Warning / Предупреждение о безопасности - горячая поверхность
	Heavy Object Safety Warning / Предупреждение о безопасности - тяжелый предмет
	Certification of TÜV / Сертификация TÜV
	The registration of the instrument in Saudi Arabia / Регистрация прибора в Саудовской Аравии
	Unique Device Identification / Идентификатор уникального прибора
	MADE IN US / Произведено в США
	PATENTS / ПАТЕНТЫ

List of national and international rules / standards to which the medical device complies / Перечень национальных и международных правил/стандартов, которым соответствует медицинское изделие

Standard Number/Revision / Номер стандарта/редакция	Title / Название
EN ISO 14971:2012	Medical devices - Application of risk management to medical devices / Изделия

Standard Number/Revision / Номер стандарта/редакция	Title / Название
	медицинские. Применение управления рисками к медицинским изделиям
EN ISO 13485:2012	Medical devices - Quality management systems - Requirements for regulatory purposes / Изделия медицинские. Системы управления качеством. Системные требования для регуляторных целей
EN 61010-1:2010	Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use - Part 1: General requirements / Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 1: Общие требования
EN 61010-2-101:2015	Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use - Part 2-101: Requirements for in vitro diagnostic (IVD) medical equipment / Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-101: Частные требования к медицинскому оборудованию для лабораторной диагностики (IVD)
EN 61010-2-081:2015	Safety requirements for electrical equipment for measurement, control, and laboratory use - Part 2-081: Requirements for automatic and semi-automatic laboratory equipment for analysis and other purposes / Безопасность электрических контрольно-измерительных приборов и лабораторного оборудования. Часть 2-081: Частные требования к автоматическому и полуавтоматическому лабораторному оборудованию для проведения анализов и других целей
EN 62304:2006	Medical device software - Software life-cycle processes / Изделия медицинские. Программное обеспечение. Процессы жизненного цикла
EN 61326-2-6:2012	Electrical equipment for measurement, control and laboratory use - EMC requirements - Part 2-6: Requirements – In vitro diagnostic (IVD) medical equipment / Оборудование электрическое для измерения, управления и лабораторного применения. Требования электромагнитной совместимости. Часть 2-6: Частные требования. Медицинское оборудование для диагностики (IVD) в лабораторных условиях
EN ISO 18113-1:2011	In vitro diagnostic medical devices - Information supplied by the manufacturer (labelling) - Part 1: Terms, definitions and general requirements / Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1: Термины, определения и общие требования
EN ISO 18113-3:2011	In vitro diagnostic medical devices - Information supplied by the manufacturer (labelling) - Part 3: In vitro diagnostic instruments for professional use / Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 3: Инструменты для диагностики in vitro для профессионального применения
EN 13612:2002	Performance evaluation of in vitro diagnostic medical devices / Оценка функциональных характеристик медицинских изделий для диагностики in vitro
EN 62366:2008	Medical devices - Application of usability engineering to medical devices / Изделия медицинские. Проектирование медицинских изделий с учетом эксплуатационной пригодности
EN ISO 15223-1:2016	Medical Devices - Symbols to be used with medical device labels, labelling and information to be supplied / Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации

Complaint

For technical advice and support, please contact the authorized representative of the manufacturer in the Russian Federation:

LLC "R-Pharm International"

Russia, 123154, Moscow, Berzarina str., h. 19, building 1, floor 1, room V, room 9

Tel.: +7 (495) 956-79-37

Fax: +7 (495) 956-79-38

E-mail: info@rpharm.ru

In case of side effects not specified in the instructions for use or the user manual of the medical device, undesirable reactions during its use, the peculiarities of the interaction of medical devices with each other, facts and circumstances that pose a threat to the life and health of citizens and medical workers in the application and operation of medical devices products, you must send a message containing the specified information to the Federal Service for Supervision in the Field of Health in accordance with applicable law.

Рекламации

Для получения технических консультаций и поддержки обратитесь к уполномоченному представителю производителя в Российской Федерации:

ООО «Р-Фарм Интернешнл»

Россия, 123154, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, корпус 1, этаж 1, кабинет V, комната 9

Тел.: +7 (495) 956-79-37

Факс: +7 (495) 956-79-38

e-mail: info@rpharm.ru

В случае обнаружения побочных эффектов, не указанных в инструкциях по эксплуатации или руководстве пользователя медицинского устройства, нежелательных реакций в ходе его эксплуатации, нарушений во взаимодействии медицинских устройств между собой, фактов и обстоятельств, которые представляют угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации медицинских устройств, необходимо направить сообщение, содержащее детальную информацию, в Федеральную службу по надзору в сфере здравоохранения в соответствии с применимым законом.



Штат Мэриленд

Администрация секретаря штата

Настоящий апостиль не действителен для использования в Соединенных Штатах Америки, на территориях и во владениях, принадлежащих данному государству.

Апостиль не удостоверяет содержание документа, для которого он был выдан.

Apostille (апостиль)

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961 (Гаагская конвенция от 5 октября 1961 г.))

1. Страна: Соединенные Штаты Америки

Настоящий официальный документ

2. Подписан Скоттом А. Пойером (Scott A. Poyer)

3. Выступающим в качестве секретаря окружного суда

4. Скреплен печатью/штампом секретаря Окружного суда округа Анн-Арандел

Удостоверено

5. В г. Аннаполисе, штат Мэриленд

6. 11 июля 2022 г.

7. Секретарем штата Мэриленд

8. За № 604683

9. Печать:

10. Подпись:

/Печать/: ПЕЧАТЬ АДМИНИСТРАЦИИ
СЕКРЕТАРЯ ШТАТА ШТАТ МЭРИЛЕНД

/Подпись/

Секретарь штата

Штат Мэриленд, округ Анн-Арандел

Настоящим я, **СКОТТ А. ПОЙЕР**, секретарь Окружного суда округа Анн-Арандел, штат Мэриленд, который является судом письменного производства, удостоверяю, что **Ахмад Миски (Ahmad Miski)** является должным образом назначенным на должность, уполномоченным и квалифицированным нотариусом, действующим с 10 мая 2021 года.

В удостоверение чего я скрепляю настоящий документ
собственноручной подписью и печатью суда сегодня,
11 июля 2022 г.

/Печать/: ОКРУЖНОЙ
СУД ОКРУГА
АНН-АРАНДЕЛ, ШТАТ
МЭРИЛЕНД

/Подпись/

Скотт А. Пойер, секретарь
Окружной суд округа Анн-Арандел, штат Мэриленд

«Генетический секвенатор Miseq
: MiseqDx»

Инструкция по
эксплуатации

/Штамп/: Настоящим я, Ханади
Аджамии (Hanadi Ajami), удостоверяю,
что данный документ является
подлинной копией оригинала.

/Подпись/

Штат Мэриленд, округ Анн-Арандел *

Подписано Ханади Аджамии под
присягой в моем присутствии. *

Ахмад Миски

Нотариус

/Подпись/

11 июля 2022 г.

Срок действия полномочий истекает

28 мая 2025 г.

/Печать/: ШТАТ МЭРИЛЕНД *

ОКРУГ АНН-АРАНДЕЛ *

НОТАРИУС * АХМАД МИСКИ

Производитель:

«Иллюмина, Инк.» (Illumina, Inc.)

Адрес:

5200 Иллюмина Уэй, Сан-Диего, Калифорния 92122, США (5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA)

/Штамп/: ЛИВАЙ П. ХОУП (LEVI P. HOPE) * Нотариус,
штат Калифорния * Округ Сан-Диего * Лицензия №
2377029 * Срок действия полномочий истекает
30 сентября 2025 г. * /БОЛЬШАЯ ПЕЧАТЬ ШТАТА
КАЛИФОРНИЯ/

Со стороны «Иллюмина, Инк.»

/Подпись/

Аурелия Браунридж (Aurelia
Brownridge)

Главный специалист
нормативно-правового отдела
«Иллюмина, Инк.»

Дата: 11 июля 2022 г.

НОТАРИАЛЬНОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
ШТАТА КАЛИФОРНИЯ

§ 1189 ГРАЖДАНСКОГО КОДЕКСА

Нотариус или иное должностное лицо, заполнившее настоящее свидетельство, удостоверяет только личность лица, подписавшего документ, к которому приложено настоящее свидетельство, а не достоверность, правильность или действительность указанного документа.

Штат Калифорния
Округ САН-ДИЕГО

}

Сегодня, 12.07.2022 ко мне, нотариусу ЛИВАЮ П. ХОУПУ,
Дата *Указать имя, фамилию и должность*
официального лица

лично обратилась АУРЕЛИЯ БРАУНРИДЖ,
Имена, фамилии лиц, подписавших документ

предоставившая достаточные доказательства, что является лицом, чьим именем подписан прилагаемый документ, и подтвердила, что уполномочена на его подписание и что посредством подписания ею настоящего документа физическое или юридическое лицо, от имени которого она действовала, надлежащим образом оформило настоящий документ.

/Штамп/: ЛИВАЙ П. ХОУП * Нотариус, В соответствии с законодательством штата штат Калифорния * Округ Сан-Диего * Калифорния ПОД УГРОЗОЙ НАКАЗАНИЯ Лицензия № 2377029 * Срок действия ЗА ПРЕДОСТАВЛЕНИЕ ЗАВЕДОМО полномочий истекает 30 сентября ЛОЖНЫХ СВЕДЕНИЙ подтверждаю, что 2025 г. * /БОЛЬШАЯ ПЕЧАТЬ ШТАТА приведенный выше абзац является верным и КАЛИФОРНИЯ/ точным.

ЗАСВИДЕТЕЛЬСТВОВАНО моей подписью
и официальной печатью.

Подпись: /Подпись/

Место печати и (или) штампа нотариуса

Подпись нотариуса

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ ИНФОРМАЦИЯ РАЗДЕЛ

Заполнение информации в данном разделе может предотвратить внесение изменений в документ или неправомерное присоединение данной формы к другому документу.

Описание приложенного документа

Название или тип документа: ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ ИНСТРУКЦИИ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ ИЗДЕЛИЯ MISEQDX, ВЕРСИЯ 2

Дата документа: 11.07.2022 Количество страниц: 1

Подписавшие документ лица, не указанные выше:

Полномочия, заявленные лицами, подписавшими документ

Имя, фамилия лица, подписавшего документ:
☐ Должностное лицо компании, должности:
☐ Партнер: ☐ с ограниченной ☐ полный
ответственностью ☐ Лицо, действующее по
☐ Физическое лицо доверенности
☐ Доверительный ☐ Опекун или попечитель
управляющий
☐ Другое:
Лицо, подписавшее документ, представляет:

Имя, фамилия лица, подписавшего документ:
☐ Должностное лицо компании, должности:
☐ Партнер: ☐ с ограниченной ☐ полный
ответственностью ☐ Лицо, действующее по
☐ Физическое лицо доверенности
☐ Доверительный ☐ Опекун или попечитель
управляющий
☐ Другое:
Лицо, подписавшее документ, представляет:

Россия

Russia

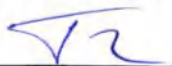
625771

C

2/6]6



Перевод данного текста выполнен мной, переводчиком Тумановым Владимиром Олеговичем.



Российская Федерация

Город Москва

Третьего августа две тысячи двадцать второго года.

Я, Литвинова Татьяна Николаевна, временно исполняющая обязанности нотариуса города Москвы Якубовой Татьяны Олеговны, свидетельствую подлинность подписи переводчика Туманова Владимира Олеговича.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 77/2171-н/77-2022- *48-СНБ*

Уплачено за совершение нотариального действия: 400 руб. 00 коп.

Всего прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью *2* лист(а) (ов)

ВРИО нотариуса



Т.Н.Литвинова

