УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «МедТех»

_____ А.Э. Губин
«16» сентября 2022 г.

Инструкция по применению

на медицинское изделие

Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики

2022

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Оглавление:

1.Наименование медицинского изделия 4

2. Сведения о производителе. 4

2.1 Производитель 4

2.2 Место производства 4

3. Состав медицинского изделия. 4

4.Назначение медицинского изделия. 4

4.1.Описание целевого аналита. 5

4.2. Функциональное назначение. 5

4.3.Специфическая патология, состояние или фактор риска, для обнаружения, определения или дифференцирования которого предназначено медицинское изделие для диагностики in vitro. 5

4.4.Тип анализируемого образца. 5

4.5. Риски применения медицинского изделия. 6

5.Показания к применению медицинского изделия. 6

6.Противопоказания к применению медицинского изделия. 6

7. Ожидаемые предсказуемые побочные эффекты, связанные с применением МИ по назначению. 6

8.Область применения медицинского изделия. 6

9.Информация о потенциальных потребителях медицинского изделия. 6

10.Условия эксплуатации медицинского изделия. 7

11. Описание рабочего процесса. 7

11.1. Общие принципы. 7

11.2. Инструкции по работе. 7

11.3. Программное обеспечением GeMS-UI. 13

12. Основные технические характеристики медицинского изделия 14

12.1. Внешний вид изделия. 14

12.2. Комплектность медицинского изделия 15

12.3. Характеристики медицинского изделия. 15

12.4. Сведения о программном обеспечении. 20

13. Описание принадлежностей, медицинских изделий или изделий, не являющихся медицинскими, но предусмотренных для использования в комбинации с заявленным медицинским изделием. 20

14. Маркировка. 21

15. Упаковка. 22

16. Меры предосторожности. 22

17. Перечень и описание материалов медицинского изделия, вступающих в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента. 23

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

18. Информация о лекарственных препаратах и (или) фармацевтических субстанциях входящих в состав медицинского изделия. 23

19. Информация о материалах животного и (или) человеческого происхождения, входящих в состав медицинского изделия. 23

20. Описание стерилизации. 23

21. Порядок и условия утилизации медицинского изделия. 24

22. Стабильность и срок годности. 24

23.Требования к транспортированию и хранению. 24

24. Гарантии производителя. 25

25. Рекламации. 25

26. Литературные ссылки. 25

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

1.Наименование медицинского изделия

Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики.

Далее по тексту - Набор реагентов.

2. Сведения о производителе.

2.1 Производитель

Общество с ограниченной ответственностью «МедТех», Россия.

Адрес: 108814, г. Москва, километр Калужское шоссе 24-й (п. Сосенское), владение 1, строение 1, помещение XIV/эт. 7/ком. 43.

Телефон: +7 (495) 101-62-12

E-mail: info@medtehltd.com

2.2 Место производства

Scisco Genetics, 6840 54th Ave NE, Seattle, WA 98115-7753, USA

3. Состав медицинского изделия.

Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики:

I. Упаковка 1, в составе:
   1. Планшет для проведения реакций, 10 мкл на лунку (96 лунок) – 2 шт.
   2. Буфер S1, 1,5 мл (пробирка 2 мл) – 3 шт.
   3. Буфер S2, 1,8 мл (пробирка 2 мл) – 1 шт.
   4. Инструкция по применению.
   5. Руководство пользователя на программное обеспечение GeMS UI.

II. Упаковка 2, в составе:
   1. Планшет для проведения реакций, 10 мкл на лунку (96 лунок) – 2 шт.
   2. Буфер S2, 1,8 мл (пробирка 2 мл) – 2 шт.
   3. Праймер для секвенирования R1, 30 мкл (пробирка 2 мл) – 1 шт.
   4. Праймер для секвенирования Index, 30 мкл (пробирка 2 мл) – 1 шт.
   5. Праймер для секвенирования R2, 30 мкл (пробирка 2 мл) – 1 шт.

III. Программное обеспечение GeMS UI (скачиваемое).

4.Назначение медицинского изделия.

Набор реагентов предназначен для in vitro диагностики при проведении типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирвания) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) на платформе Illumina® MiSeq™ (для секвенирования экзонов с 1 по 7/8 для HLA класса I; экзонов с 1 по 4/5 для DPA1 и DPB1; и экзонов с 1 по 4/6 экзона для DQA1, DQB1 и DRB1/3/4/5). Результаты произведенного типирования используются в клинических целях для подбора донора и реципиента при трансплантации клеток и органов и для фундаментальных исследований.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

4.1.Описание целевого аналита.

Целевым анализируемым компонентом является геномная ДНК человека. Минимальная концентрация материала составляет 10 нг/мкл. Материал должен иметь средний размер генома >500 п.о.

Максимальная концентрация материала составляет 100 нг/мкл. В случае превышения величины этого параметра необходимо разбавить аналит трис-буфером до достижения концентрации 10-20 нг/мкл, являющейся оптимальной для проведения исследования.

Набор реагентов не пригоден для HLA-типирования по мРНК.

4.2. Функциональное назначение.

Скрининг для подбора донора и реципиента при трансплантации костного мозга, стволовых клеток, солидных органов.

4.3.Специфическая патология, состояние или фактор риска, для обнаружения, определения или дифференцирования которого предназначено медицинское изделие для диагностики in vitro.

Специфичности генов системы HLA играют важнейшую роль в регуляции иммунного ответа человека на чужеродные антигены, определяют уникальность аллельного полиморфизма генов, отвечающих за тканевую совместимость и ответственны за отторжение чужеродных тканей при трансплантации.

HLA-генотипирование в клинических условиях применяется для определения тканевой специфичности донора и реципиента с целью подбора гистосовместимой пары при аллогенной трансплантации органов или тканей.

Наиболее частой причиной поиска донора является необходимость трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) красного костного мозга (ККМ). Трансплантация ГСК является клинически эффективным и жизнеспасающим методом лечения онкогематологических, онкологических и наследственных заболеваний.

Определяемые гены человеческих лейкоцитарных антигенов (HLA-гены):

HLA-ген	Экзон
HLA-A	с 1 по 7/8
HLA-B	
HLA-C	
DPA1	с 1 по 4/5
DPB1	
DQA1	с 1 по 4/6
DQB1	
DRB1/3/4/5	

4.4.Тип анализируемого образца.

Геномная ДНК человека из различных источников подходит в качестве анализируемого компонента для типирования набором реагентов «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики».

ДНК, выделенная из цельной крови человека, успешно использовалась для типирования генов ситемы HLA, при соблюдении соответствующий методология экстракции (выделения) ДНК в соответствии с источником образца. Процедуры выделения геномной ДНК подробно описаны в инструкции пользователя соответствующих коммерчески доступных наборах для выделения образцов ДНК, соответствующих исходному материалу.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Процедуры забора образца определяются ГОСТ Р 53079.4-2008 «Обеспечение качества клинических лабораторных исследований Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа» и могут дополняться стандартными операционными процедурами лаборатории, проводящей типирование.

4.5. Риски применения медицинского изделия.

В зависимости от потенциального риска применения Набор реагентов, в соответствии с требованиями Приказов Минздрава России № 4н от 06.06.2012 г. «Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий», относится к классу **2б.**

5.Показания к применению медицинского изделия.

HLA-генотипирование для использования в клинической деятельности, включая клинические лаборатории, в том числе с целью HLA генотипирования родственных и неродственных доноров костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток при проведении аллогенной трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК), а также трансплантации солидных органов человека.

6.Противопоказания к применению медицинского изделия.

При использовании изделия по назначению и в соответствии с требованиями Инструкции по применению противопоказаний не имеет.

7. Ожидаемые предсказуемые побочные эффекты, связанные с применением МИ по назначению.

При использовании изделия по назначению и в соответствии с требованиями Инструкции по применению побочных эффектов не имеет.

8.Область применения медицинского изделия.

Клиническая лабораторная диагностика (in vitro).

9.Информация о потенциальных потребителях медицинского изделия.

Набор реагентов предназначен для использования в клинической деятельности, включая клинические лаборатории, для проведения генотипирования при осуществлении трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), а также трансплантации солидных органов человека.

Набор реагентов предназначен только для профессионального применения. Исследования с использованием Набора реагентов могут выполнять специалисты с высшим медицинским и биологическим образованием, допущенные к выполнению трудовых функций третьей и четвертой категории сложности согласно «Профессиональному стандарту специалиста клинической лабораторной диагностики»: врач клинической лабораторной диагностики, биолог, лабораторный генетик.

Персонал, проводящий исследования с использованием Набора реагентов, должен владеть навыками проведения молекулярно-биологических исследований и работы на генетическом

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

секвенаторе MiSeq (Illumina Inc.) Перед первой постановкой рекомендуется пройти инструктаж в лаборатории производителя.

Протокол проведения, приведенный в инструкции по применению, должен соблюдаться и выполняться квалифицированным медицинским работником, а полученные результаты должны быть проверены и валидированы как квалифицированным медицинским работником, так и врачом клинической лабораторной диагностики.

10.Условия эксплуатации медицинского изделия.

Набор реагентов предназначен для эксплуатации в условиях клинико-диагностических лабораторий, больниц и других лечебно-профилактических медицинских учреждений соответствующего профиля.

Набор реагентов предназначен для использования с образцом геномной ДНК человека независимо от пола, возраста, профессии, уровня образования, религии, этнической принадлежности, дохода, типа семьи, семейного положения, географического положения, социального класса или любых других аспектов популяции.

11. Описание рабочего процесса.

11.1. Общие принципы.

«Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики» предназначен для использования на платформе Illumina® MiSeq™ для секвенирования путем синтеза (SBS) для идентификации аллелей HLA для каждого из HLA-A, B, C, DRB1/3/4/5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1. Все локусы исследуются в высоком разрешении - экзоны 1-7 для CI и экзоны 1-4 для CII – включая сообщение обо всех известных интронах и экзонах, кодирующих нулевые аллели, и обнаружение новых вариантов.

11.2. Инструкции по работе.

Протокол проведения:

I. 1 этап ПЦР.

A. Разморозьте пробирку с буфером S1 при комнатной температуре в течение 10-20 минут. Перед использованием убедитесь, что буфер S1 полностью разморожен. Энергично перемешайте пробирку с использованием вортекса, тщательно осадите перед использованием.

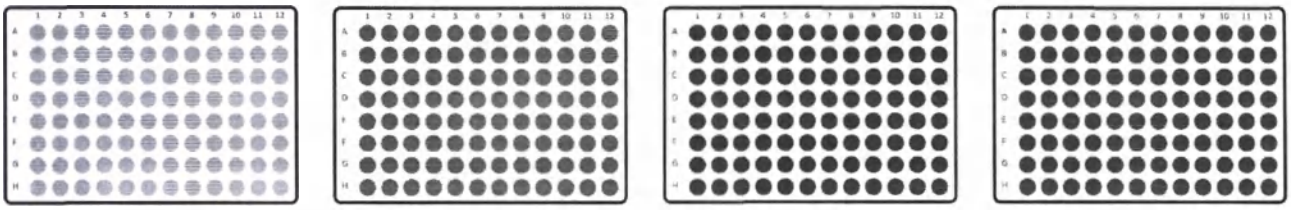
B. Реакционный планшет разморозьте при комнатной температуре не менее 10 минут. Перед использованием убедитесь, что жидкость в плашках полностью оттаяла. Перемешайте плашку с помощью вортекса, затем центрифугируйте при 1 400-2 000 об/мин не менее 1 минуты, прежде чем снять крышки с лунок.

C. 2 мкл ДНК (минимум ~10 нг/мкл) перенесите в соответствующие ампликонные лунки. Например, если 96 образцов нанесены на 96-луночный планшет для ПЦР (именуемый ниже как «ДНК-планшет»), используйте 8-канальную пипетку для выполнения следующих действий:

1. Перенесите ДНК из столбца 1 ДНК-планшета в столбец 1 каждого из четырех реакционных планшетов. Пипеткой нанесите каплю на боковые стенки и проверьте, что в каждой лунке есть капля.
2. Перенесите ДНК из столбца 2 ДНК-планшета в столбец 2 каждого из четырех реакционных планшетов. Пипеткой нанесите каплю на боковые стенки и проверьте, что в каждой лунке есть капля.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

3. Перенесите ДНК из столбца 3 ДНК-планшета в столбец 3 каждого из четырех реакционных планшетов. Пипеткой нанесите каплю на боковые стенки и проверьте, что в каждой лунке есть капля.
4. .... до 12 – проведите ту же последовательность действий для столбцов с 4-го по 12-й.



HLA-Amp1 HLA-Amp2 HLA-Amp3 HLA-Amp4

Рисунок 1. Схема расположения смесей праймеров в реакционном планшете.

D. Осмотрите реакционный планшет, чтобы убедиться, что каждая лунка содержит ДНК, затем центрифугируйте.
E. Тщательно перемешайте буфер S1.
F. Добавьте 19 мкл Platinum™ Taq в пробирку с буфером S1 и перемешайте с помощью вортекса.
G. Добавьте 8 мкл буфера S1 и смеси Platinum™ Taq в каждую лунку и центрифугируйте.
H. Запечатайте реакционный планшет и выполните следующую процедуру термоциклирования:

Процедура ПЦР 1-го этапа:

95 °C	→	95 °C	→	60 °C	→	72 °C	→	4 °C
15 мин.		30 сек.		30 сек.		1 мин.		Выдержка
				20 циклов				

II. 2 этап ПЦР.

A. Уберите реакционный планшет с термоциклера и центрифугируйте при 1 400-2 000 об/мин не менее 1 минуты.
B. Буфер S2 размораживают при комнатной температуре на 10-20 минут непосредственно перед использованием. Перед использованием убедитесь, что буфер S1 полностью разморожен. Энергично перемешайте пробирку на вортексе и осадите.
C. Добавьте 10 мкл буфера S2 в каждую соответствующую лунку реакционного планшета, затем центрифугируют. ***Не следует переносить продукт ПЦР на новый планшет.***
D. Запечатайте реакционный планшет и выполните следующую процедуру термоциклирования. ***Используйте для запечатывания строго новые пленки или крышки для ПЦР-планшетов.***

Процедура ПЦР 2-го этапа:

37 °C	→	95 °C	→	95 °C	→	50 °C	→	72 °C	→	72 °C	→	4 °C
60 мин.		15 мин.		30 сек.		30 сек.		1 мин.		7 мин.		Выдержка
						25 циклов						

E. Перейдите к этапу III или храните при температуре от - 15 до - 25 °C в течение 6 месяцев.

III. Визуализация продуктов амплификации.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

A. После завершения 2-го этапа амплификации реакционный планшет центрифугируйте и отберите 3 мкл продукта ампликона из нескольких образцов, например, 8 на ампликон, и визуализируйте на 1,5 % агарозном геле. Полосы должны выглядеть так, как показано на Рисунке 2 (~300 п.о.):

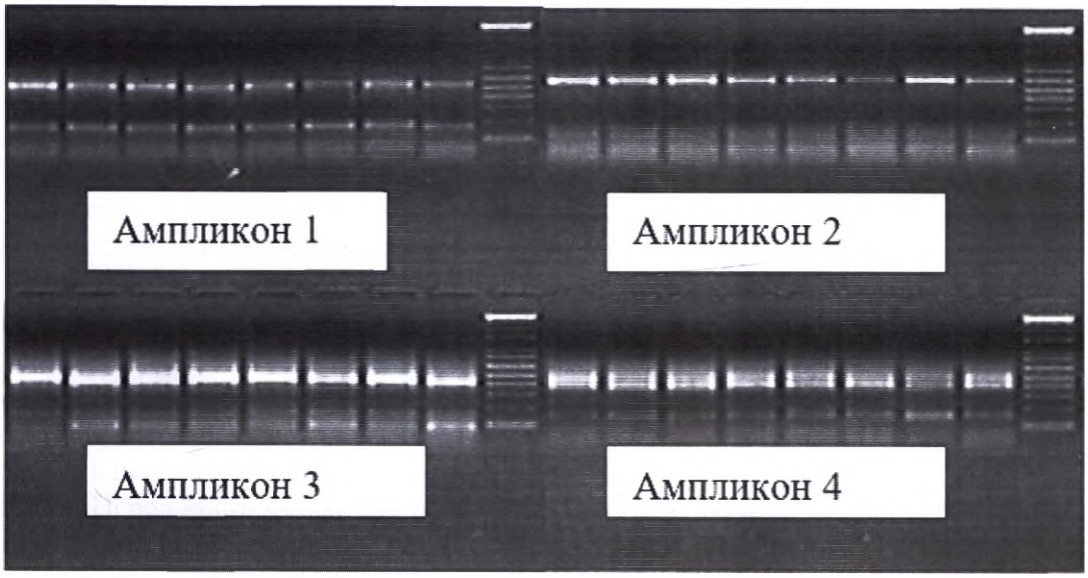


Рисунок 2. Изображение геля для проверки реакций после 2-го этапа ПЦР

B. Перейдите к шагу IV или храните при температуре от - 15 до - 25 °C в течение 6 месяцев.

IV. Объединение образцов ампликонов.

A. Для каждого продукта реакции перенесите 20 мкл из каждой реакционной лунки в пробирку объемом 2 мл или 5 мл с защелкивающейся / завинчивающейся крышкой для работы с микроцентрифугой.

B. Тщательно перемешайте каждый из 4 пулов ампликонов и перейдите к шагу V или храните при температуре от - 15 до - 25 °C до 6 месяцев.

V. Очистка и выбор размера пулов.

Цель этого шага - удалить короткие фрагменты ДНК (<250 п.о.) из пулов ампликонов, чтобы оптимизировать процент пригодных кластеров в ходе выполнения MiSeq™. Из доступных колонок на основе кремнезема для выбора размера мы рекомендуем Zymo Research®Select-A-Size DNA Clean and Concentrator™ (кат. № D4080). Альтернативные варианты выбора размера включают набор для выбора размера GeneRead™ (Qiagen® кат. № 180514) и магнитные гранулы SPRI размером 0,7X AMPure XP (Beckman Coulter®, кат. № A63880).

Для каждого из 3 вариантов ниже используйте 100 мкл каждого пула ампликонов для очистки с последующей визуализацией продуктов в 1,5 % агарозном геле для подтверждения удаления полос < 200 п.о. (см. Рисунок 3).

- **Вариант 1:** *Select-A-Size DNA* Clean and Concentrator™ (Zymo Research®, кат. № D4080)

A. Подготовьте буф смесь Zymo, исходя из расчета 530 мкл на образец, в соответствии с Таблицей 1:

Таблица 1: Смесь Zymo для связывания и выбора размера

Компонент	Буфер Zymo для связывания ДНК	NaOH (2N) молекулярной чистоты	Этанол, 100%, молекулярной чистоты	Общий объем
Всего (5 реакций)	2 490 мкл	10 мкл	150 мкл	2 650 мкл

B. Следуйте инструкции Zymo начиная со 2 шага до 7 (объем элюирования 40 мкл).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- **Вариант 2:** Набор для выбора размера GeneRead™ (Qiagen® кат. № 180514)

A. Следуйте руководству Qiagen® (Протокол: Выбор размера GeneRead библиотеки ДНК, подготовленный с помощью набора GeneRead™ DNA Library Prep I). Мы рекомендуем следующие параметры:

a. Оставьте колонку для инкубации при комнатной температуре на 5 мин после добавления буфера TE к мембране.

b. Для элюирования добавьте 30 мкл буфера EB и оставьте колонку для инкубации при комнатной температуре в течение 5 минут.

Примечание: Если вышеуказанный протокол не дает достаточного выхода, используйте больший объем ДНК или попробуйте метод с одним проходом, как описано в разделе «Протокол: Выбор размера фрагментированной ДНК GeneRead в общих буферах элюирования».

- **Вариант 3:** Очистка магнитными гранулами 0,7X Ampure XP (Beckman Coulter® кат. № A63880)

A. Следуйте приведенному ниже протоколу:

a. Перед использованием проверьте, что гранулы AMPure достигли комнатной температуры.

b. Отберите аликвоту 0,7 X объема гранул AMPure в свежую пробирку объемом 2,0 мл, добавляют 1x объем каждого пула ампликонов к гранулам AMPure (например, 100 мкл пула ампликонов к 70 мкл гранул AMPure).

c. Тщательно перемешайте каждый пул ампликона и гранулы с помощью вихревой мешалки и центрифугируйте, чтобы собрать содержимое на дне пробирки. Инкубируйте при комнатной температуре в течение 5 минут.

d. Каждую пробирку объемом 2,0 мл поместите на магнитный штатив с пробирками, пока раствор полностью не очистится (~5 минут), тщательно аспирируйте надосадочную жидкость и утилизируйте.

e. Извлеките пробирки из магнитного штатива с пробирками и добавьте 1 мл 70 % ETOH, аккуратно перемешайте на магнитной мешалке, чтобы ресуспендировать гранулы, и быстро центрифугируйте, чтобы собрать содержимое на дне пробирки.

f. Поместите пробирки на магнитный штатив с пробирками, пока раствор полностью не очистится (~5 мин), тщательно аспирируйте надосадочную жидкость и утилизируйте.

g. Повторите шаги e. и f.

h. Извлеките пробирки из магнитного штатива и центрифугируйте в течение ~30 секунд, чтобы собрать все гранулы и остатки ETOH в нижнюю часть пробирки, каждую пробирку поместите на магнитный штатив.

i. Тщательно удалите остатки ETOH со дна пробирки, а затем снимите пробирку с магнитного штатива.

j. Дайте гранулам высохнуть при комнатной температуре в течение 3-5 минут. Следует проявлять осторожность, чтобы не пересушить гранулы.

k. Добавьте 30 мкл буфера Qiagen® для элюирования в гранулы и встряхиванием/вихревой мешалкой полностью ресуспендируйте гранулы.

l. Быстро центрифугируйте, собрав содержимое на дне пробирки и инкубируйте не менее 5 минут.

m. Разместите пробирки на магнитном штативе для пробирок, пока раствор полностью не очистится (~5 минут).

n. Медленно аспирируйте надосадочную жидкость. Не трогайте гранулы. 40 мкл надосадочной жидкости помещают в чистую пробирку объемом 1,5 мл. Этот супернатант содержит очищенный пул ампликонов и готов к количественному определению, объединению с другими пулами ампликонов и запуску в MiSeq™.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

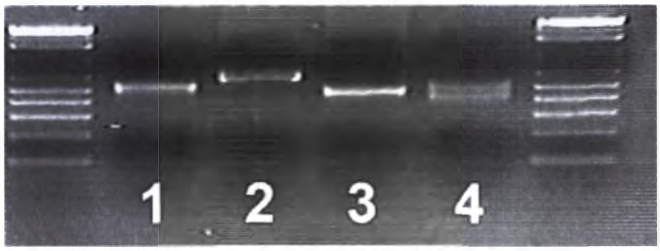


Рисунок 3. Пулы ампликонов после окончательной очистки.

VI. Количественное определение продукта реакции.

Целью данного этапа является достижение оптимального баланса между 4 пулами ампликонов. Любой метод, который точно измеряет массу и/или молярные величины, предоставит информацию, необходимую для выполнения данного шага. Концентрации выводятся из выбранного метода количественной оценки с производными значениями, введенными непосредственно в HLA-v6-Pooling-Workbook.xlsx, что позволяет рассчитать оптимальные объемы каждого ампликона для комбинации перед загрузкой MiSeq™.

- **Вариант 1:** Набор для анализа Qubit® dsDNA HS (Thermo Fisher Scientific® кат. № Q32854)

A. Следуйте руководству Qubit® (Руководство пользователя: Набор для анализа Qubit® dsDNA HS). Мы рекомендуем следующие параметры:

a. Стандарты измерения: 10 мкл (Стандарт № 1, Стандарт № 2) и 190 мкл смеси красителей.

b. Образцы для измерения: 2 мкл каждого очищенного пула ампликонов и 198 мкл смеси красителей.

B. Введите измеренное значение (нг/мкл) в таблицу «Quant and Pool Qubit HS» в HLA-v6-Pooling-Workbook.xlsx .

- **Вариант 2:** Набор Quant-It™ PicoGreen® dsDNA (Thermo Fisher Scientific® кат. № P11496)

A. Следуйте руководству PicoGreen® (Набор реагентов и наборов Quant-IT™ PicoGreen® dsDNA). Мы рекомендуем следующие параметры:

a. Добавьте 200 мкл смеси для разведения PicoGreen® в каждую из 10 лунок 96-луночного измерительного планшета (например, Nunclon®, кат. № 137101).

b. Снимите дублирующие показания. Добавьте 2 мкл каждого очищенного пула ампликонов. Добавьте 2 мкл стандарта Lamba в соседние лунки для сравнения (Ex/Em: 480/520 нм).

c. Дайте настояться при комнатной температуре в течение 5 минут.

B. Введите измеренное значение (RFU) в рабочий лист «Quant and Pool Picogreen» в HLA-v6-Pooling-Workbook.xlsx .

- **Вариант 3:** Определяемый пользователем метод количественного определения концентраций ДНК

A. Введите измеренную концентрацию ДНК (нг/мкл) в таблицу «Quant and Pool Qubit HS» в HLA-v6-Pooling-Workbook.xlsx.

VII. Объединение количественных пулов.

A. Используя объемы, заданные HLA-v6-Pooling-Workbook.xlsx, объедините пулы ампликонов в новую пробирку для микроцентрифуги объемом 1,5 мл.

B. Тщательно перемешайте на вортексе объединенную библиотеку и используйте HLA-v6-Pooling-Workbook.xlsx для разбавления библиотеки MiSeq™ для расчета объема буфера EB. HLA-v6-Pooling-Workbook.xlsx содержит два листа под названием «Quant and Pool Picogreen» и «Quant and Pool Qubit HS». Они выполняют вычисления для использования с набором dsDNA Quant-It™ PicoGreen® и набором для анализа HS dsDNA Qubit® соответственно. Рабочий лист «Quant and Pool Qubit HS» также может использоваться с любым определяемым пользователем методом

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

количественного определения концентраций ДНК. Для получения дополнительной информации см. скриншоты ниже.

HLA-v6-Pooling-Workbook.xlsx, рабочий лист «Quant and Pool Picogreen»:

Спец.	
Дата	
Эксперимент	

= область ввода
= область вывода

Введите значение ГКИ для стандарта, 100 нг/мкл Лямбда

КОЛИЧ.СТ.	ЧТЕНИЕ1 (ГКИ)	ЧТЕНИЕ2 (ГКИ)	СР. ГКИ
100 нг/мкл Лямбда	9767.5	9767.5	9767.5

Объем для объединения каждого пула ампликона

КЛАСС АМП.	ЧТЕНИЕ1 (ГКИ)	ЧТЕНИЕ2 (ГКИ)	СР. ГКИ	Конц. (нМ)	Объем пула (мкл)
HLA_1	555	550	552.5	10.6	14.2
HLA_2	695	690	692.5	13.3	5.7
HLA_3	845	845	845	18.8	8.0
HLA_4	915	912	913.5	17.5	7.1

Итоговая конц. пула (нМ)	Объем ЕБ для разведения 5 мкл ДНК до 4 нМ (мкл)	Объем 4 нМ р-ра ДНК для денатурата (мкл)	Объем 0,2н. р-ра NaOH для денатурата (мкл)	Объем гиб. буфера в денатурате (мкл)	Объем гиб. буфера для итогового пула (мкл)	Объем 20 пМ р-ра денатурата для итогового пула (мкл)
14.3	12.9	5	5	990	200	800

Введите значение ГКИ для пулов ампликонов

Концентрация при загрузке (пМ)	16
Общая масса пула (фмоль)	500

Отрегулируйте концентрацию при загрузке для оптимизации плотности кластеров (опционально)

Отрегулируйте общую массу пула для оптимизации объема до уровня вывода для пула (опционально)

HLA-v6-Pooling-Workbook.xlsx, рабочий лист «Quant and Pool Qubit HS»:

Спец.	
Дата	
Эксперимент	

= область ввода
= область вывода

Объем для объединения каждого пула ампликона

КЛАСС АМП.	ЧТЕНИЕ1 (нг/мкл)	ЧТЕНИЕ2 (нг/мкл)	ЧТЕНИЕ3 (нг/мкл)	Конц. (нМ)	Объем пула (мкл)
HLA_1	5.7		5.7	10.6	14.2
HLA_2	7.0		7.0	13.1	5.7
HLA_3	8.7		8.65	18.8	8.0
HLA_4	9.4		9.4	17.5	7.1

Итоговая конц. пула (нМ)	Объем ЕБ для разведения 5 мкл ДНК до 4 нМ (мкл)	Объем 4 нМ р-ра ДНК для денатурата (мкл)	Объем 0,2н. р-ра NaOH для денатурата (мкл)	Объем гиб. буфера в денатурате (мкл)	Объем гиб. буфера для итогового пула (мкл)	Объем 20 пМ р-ра денатурата для итогового пула (мкл)
14.3	12.9	5	5	990	200	800

Введите концентрации для пулов ампликонов

Концентрация при загрузке (пМ)	16
Общая масса пула (фмоль)	500

Отрегулируйте концентрацию при загрузке для оптимизации плотности кластеров (опционально)

Отрегулируйте общую массу пула для оптимизации объема до уровня вывода для пула (опционально)

VIII. Подготовка и загрузка MiSeq.

А. Следуйте инструкциям по подготовке Illumina ® MiSeq ™с приведенными ниже параметрами:

Шаг	Описание
Разбавьте до 4 нм	Объединенная библиотека 5 мкл См. шаблон объединения для объема буфера ЕВ
Денатурируйте	Библиотека 5 мкл 4 нм тщательно 5 мкл 0,2н. NaOH перемешать
Инкубируйте	5 мин при RT
Разбавленная денатурированная ДНК	990 мкл буфера HT-1 10 мкл денатурированной библиотеки
Разбавьте до концентрации загрузки (16 пМ)*	800 мкл 20 пМ денатурированной библиотеки 200 мкл буфера HT-1
Разбавленные праймеры MiSeq	770 мкл HT-1 добавляют непосредственно в каждый флакон R1, Index и R2

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Шаг	Описание
Добавьте в лоток	Порт 17: добавляют 600 мкл разбавленной библиотеки Порт 18: добавляют 600 мкл разбавленного праймера R1 Порт 19: добавляют 600 мкл разбавленного индексного праймера Порт 20: добавляют 600 мкл разбавленного праймера R2

* Плотность кластеров можно регулировать прямо пропорционально концентрации нагрузки.

B. Следуйте инструкциям Illumina®, чтобы промыть и высушить проточную камеру.

C. Создайте лист для образца, используя шаблон образца листа MiSeq™, соответствующий используемому набору и конкретной системе индексов (A1, A2 или обе).

a. Заполните ячейки, расположенные рядом с ячейками с надписями: «ФИО исследователя», «Название проекта» и «Название эксперимента» (не используйте запятые, косые черты или пробелы при заполнении этих ячеек).

b. Введите имена идентификаторов образцов в ячейки под ячейкой с надписью: «Название образца».

c. Нажмите «Сохранить как» и используйте номер MS на картридже MiSeq, чтобы назвать файл (MSXXXXXXX-500V2).

d. Сохраните как файл .csv.

D. Загрузите образец листа на секвенатор MiSeq™.

E. Перейдите к управляющему программному обеспечению Illumina® MiSeq™ и следуйте инструкциям на экране, чтобы загрузить MiSeq ™и начать секвенирование.

Примечание: Целостность компонентов набора гарантируется в течение 6 месяцев с даты покупки. Реагенты регулярно испытываются от партии к партии, чтобы гарантировать, что они обеспечивают максимальную эффективность и надежность.

IX. Анализ и оценка результатов.

Проводится анализ и оценка полученных результатов с помощью Программного обеспечения GeMS-UI.

Подробные сведения о процедуре оценки полученных результатов содержатся в Руководстве пользователя на программное обеспечение GeMS UI.

11.3. Программное обеспечением GeMS-UI.

GeMS-UI — это приложение для компьютера, разработанное Scisco Genetics для просмотра, редактирования и валидации описания результатов типирования «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики».

Ключевые особенности:

1. Результаты 3-зонного (6-значного) типирования результатов для 11 локусов HLA.
2. Идентификация всех известных клинически значимых экзонных и интронных кодируемых нулевых аллелей.
3. Простой анализ данных и отчетность.

Программное обеспечение GeMS-UI доступно пользователю для скачивания по адресу: https://www.sciscloud.net.

Подробные сведения о работе ПО приведены в Руководстве пользователя на программное обеспечение GeMS UI.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

12. Основные технические характеристики медицинского изделия.

12.1. Внешний вид изделия.

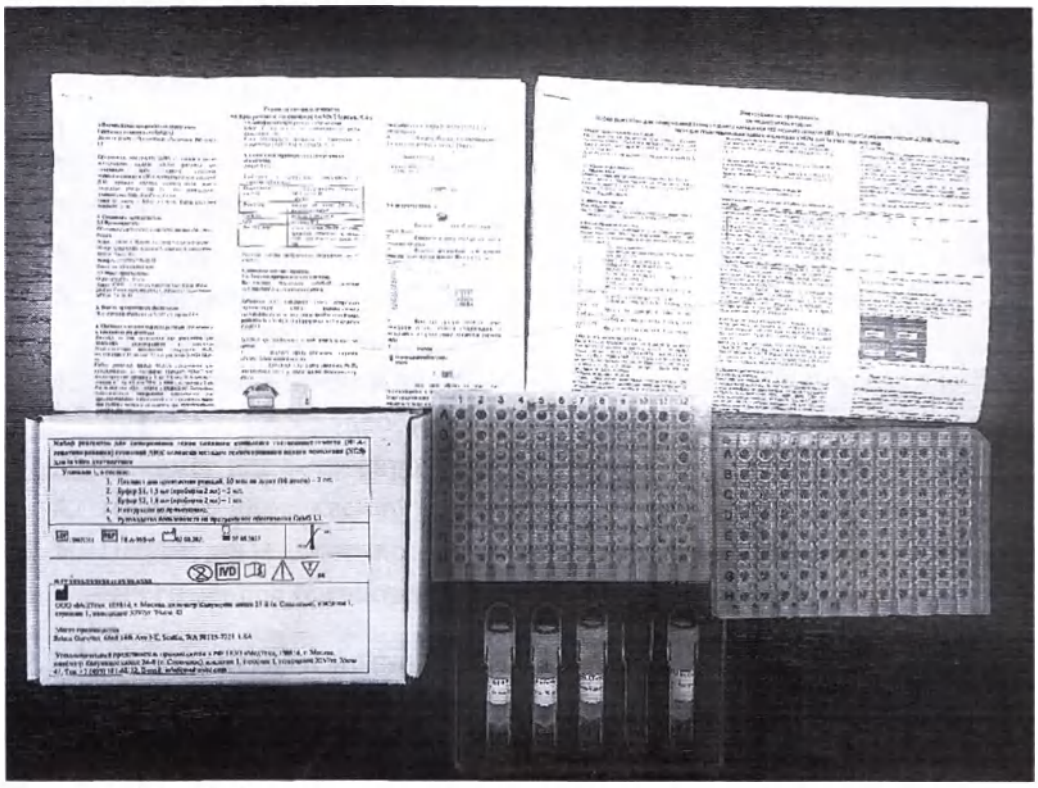


Рисунок 1.1. Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики. Упаковка 1.

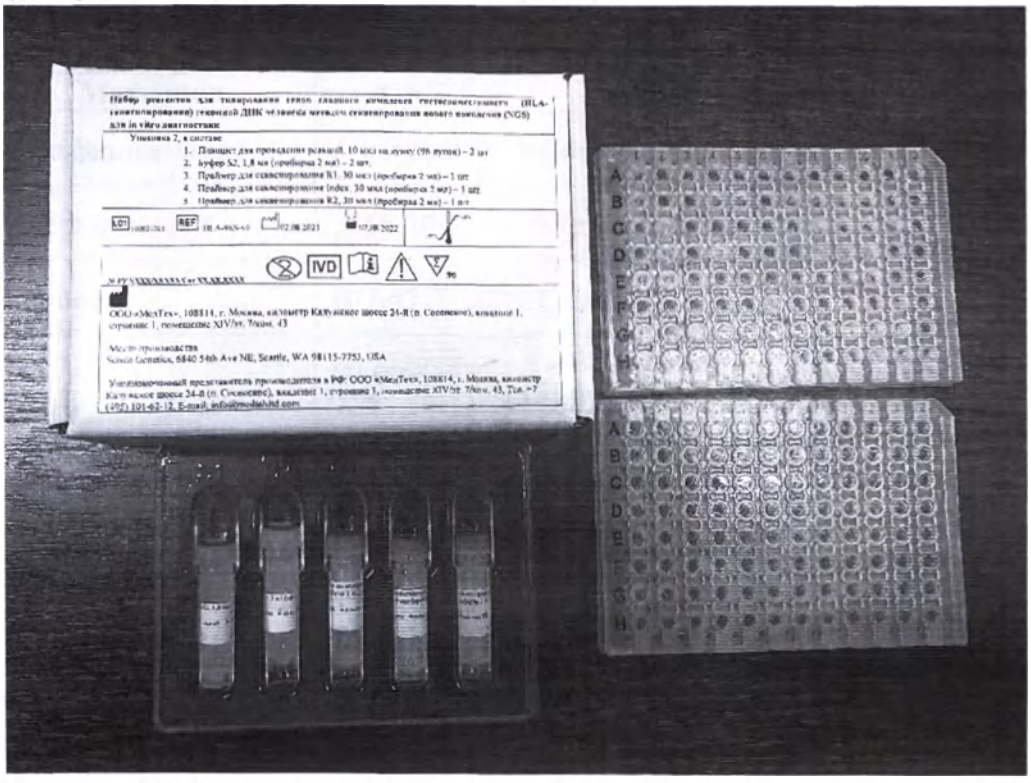


Рисунок 1.2. Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики. Упаковка 2.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

12.2. Комплектность медицинского изделия.

Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики:

I. Упаковка 1, в составе:
   1. Планшет для проведения реакций, 10 мкл на лунку (96 лунок) – 2 шт.
   2. Буфер S1, 1,5 мл (пробирка 2 мл) – 3 шт.
   3. Буфер S2, 1,8 мл (пробирка 2 мл) – 1 шт.
   4. Инструкция по применению.
   5. Руководство пользователя на программное обеспечение GeMS UI.

II. Упаковка 2, в составе:
   1. Планшет для проведения реакций, 10 мкл на лунку (96 лунок) – 2 шт.
   2. Буфер S2, 1,8 мл (пробирка 2 мл) – 2 шт.
   3. Праймер для секвенирования R1, 30 мкл (пробирка 2 мл) – 1 шт.
   4. Праймер для секвенирования Index, 30 мкл (пробирка 2 мл) – 1 шт.
   5. Праймер для секвенирования R2, 30 мкл (пробирка 2 мл) – 1 шт.

III. Программное обеспечение GeMS UI (скачиваемое).

12.3. Характеристики медицинского изделия.

Габаритные размеры набора реагентов (Упаковка 1) (ДхШхВ): 155 мм х 105 мм х 50 мм.

Масса набора реагентов (Упаковка 1): 181 г.

Габаритные размеры набора реагентов (Упаковка 2) (ДхШхВ): 155 мм х 105 мм х 50 мм.

Масса набора реагентов (Упаковка 2): 150 г.

Примечание: допустимое отклонение массы и габаритов набора реагентов ±5%.

Материалы, входящие в состав набора:

Материал	CAS	Марка	Производитель
Сульфат аммония	7783-20-2	«Сигма» (Sigma)	«Сигма-Алдрич Инк» (Sigma-Aldrich Inc.), США
Хлорид магния	7786-30-3	«Сигма» (Sigma)	«Сигма-Алдрич Инк» (Sigma-Aldrich Inc.), США
Бетаин	107-43-7	«Сигма» (Sigma)	«Сигма-Алдрич Инк» (Sigma-Aldrich Inc.), США
ЭДТА	60-00-4	«Сигма-Алдрич» (Sigma-Aldrich)	«Сигма-Алдрич Инк» (Sigma-Aldrich Inc.), США
Глицерол	56-81-5	«Сигма» (Sigma)	«Сигма-Алдрич Инк» (Sigma-Aldrich Inc.), США
Трис-HCl (pH = 9)	1185-53-1	«Сигма» (Sigma)	«Сигма-Алдрич Инк» (Sigma-Aldrich Inc.), США
Трис-HCl (pH = 8)			
Трис-HCl (pH = 7,8)			
Хлорид натрия	7647-14-5	«Сигма-Алдрич» (Sigma-Aldrich)	«Сигма-Алдрич Инк» (Sigma-Aldrich Inc.), США
ДТТ (дитиотреитол)	3483-12-3	«Сигма» (Sigma)	«Сигма-Алдрич Инк» (Sigma-Aldrich Inc.), США
АБС	9003-56-9	«Сигма» (Sigma)	«Сигма-Алдрич Инк» (Sigma-Aldrich Inc.), США
Тритон Х-100	9036-19-5	«Сигма» (Sigma)	«Сигма-Алдрич Инк» (Sigma-Aldrich Inc.), США

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Аналитические характеристики.

Развитие технологий секвенирования нового поколения (NGS) за последние несколько лет позволяет эффективно и экономично проводить типирования генов HLA, что особенно важно для клинических лабораторий, работающих в сфере трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток. Секвенирование нового поколения может идентифицировать все варианты в геномной области, устраняя фазовые неопределенности и делая ненужными дополнительные испытания. При работе «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики» использует настольный Секвенатор Illumina MiSeq для секвенирования экзонов с 1 по 7/8 для HLA класса I; экзонов с 1 по 4 для DPA1 и DPB1; и экзонов с 1 по 4/6 экзона из DQA1, DQB1 и DRB1/3/4/5. Устройство Illumina MiSeq позволяет использовать метод последовательного синтеза.

Описание и принцип метода.

Протокол валидации MiSeq для типирования HLA с использованием секвенирования нового поколения (NGS) основан на загрузке идентичных образцов, полученных из Центра иммуногенетики Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе и Американского сообщества гистосовместимости и иммуногенетики (ASHI) для проведения исследования на двух различных устройствах MiSeq. Образцы были типированы для HLA-A, B, C, DPA1, DPB1, DQA1, DQB1 и DRB1/3/4/5. Для проведения исследований было использовано 6 наборов, полученных из Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе, которые включали по 6 образцов в каждом наборе.

Показатель эффективности валидации заключается в получении 100% соответствия между двумя независимыми запусками MiSeq, с одинаковыми параметрами запуска при тестировании. Два запуска специалисты загружают независимо в один и тот же день, повторяют с новыми реакционными смесями каждые шесть месяцев.

Использование этого подхода позволило продемонстрировать совместимость с устройствами MiSeq и предоставило данные о согласованности эффективности отдельных устройств. Специалисту или другому квалифицированному лицу была предоставлена ДНК, обработанная с помощью «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики», который был валидирован в соответствии с протоколом установки изделия, и конечный образец изделия был использован в двух различных устройствах MiSeq. Удовлетворительный результат данного исследования будет на 100% соответствовать результатам для образцов, полученным с помощью двух анализаторов.

Если результаты для испытанных образцов соответствовали стандарту спецификации эффективности, то валидация считалась завершенной. Если бы были обнаружены расхождения, они были бы исследованы и была бы предпринята попытка установить причину (расхождения не обнаружены). Результаты, которые считаются вероятными из-за лабораторной ошибки или других ограничений, будут повторены специалистом до тех пор, пока не будет достигнуто соответствие спецификации эффективности. Причина(-ы) несоответствия будет(-ут) устранена(-ы) для дальнейшего испытания.

Валидация Illumina MiSeq с помощью «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики» прошла успешно со 100% согласованием между двумя использованиями устройств в ходе испытаний, проведенных с

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

интервалом в шесть месяцев. В таблице приведены данные о количестве образцов, испытанных за последний 2-летний период.

Резюме результатов валидации MiSeq:

Дата испытания	Количество образцов – количество генотипов	Идентификация генотипа между запусками устройства MiSeq	Процент совпадения
09.10.2019	48-18	864/864	100%
03.10.2020	48-18	864/864	100%
09.01.2020	48-18	864/864	100%
06.01.2021	48-18	864/864	100%

Влияние потенциально интерферирующих веществ.

Производителем не выявлены потенциально интерферирующие вещества, оказывающие влияние на результаты секвенирования экзонов с 1 по 7/8 для HLA класса I; экзонов с 1 по 4/5 для DPA1 и DPB1; и экзонов с 1 по 4/6 экзона для DQA1, DQB1 и DRB1/3/4/5.

Диагностические характеристики.

Типирование на основе последовательности HLA с использованием протоколов обнаружения терминаторов при помощи красителя является золотым стандартом для типирования HLA с момента его создания в 1990-х годах. Однако этот метод ограничен высокой стоимостью и низкой пропускной способностью. Развитие технологий следующего поколения за последние годы позволяет быстро и экономично секвенировать гены HLA, что особенно важно для клинических учреждений и лабораторий, которые занимаются формированием регистра доноров костного мозга. Секвенирование следующего поколения может идентифицировать все варианты в геномной области, устраняя неоднозначности фазы и делая ненужными дополнительные испытания. «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики» использует настольный секвенсор Illumina MiSeq для секвенирования экзонов с 1 по 7/8 для HLA класса I; экзонов с 1 по 4 для DPA1 и DPB1; и экзонов с 1 по 4/6 экзона из DQA1, DQB1 и DRB1/3/4/5. Устройство Illumina MiSeq позволяет использовать метод секвенирования путем синтеза с использованием флуоресцентно меченых нуклеотидов с обратимым терминатором.

Протокол определения точности и специфичности для типирования HLA с использованием секвенирования следующего поколения (NGS) основан на типировании образцов для квалификационных испытаний (КИ), полученных из Центра иммуногенетики Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе и Американского сообщества гистосовместимости и иммуногенетики (ASHI), и проекта тысячи геномов. Три испытания проводятся регулярно, в том числе *(i)* проверки партии выполняется для каждой новой партии «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики» с использованием общедоступных образцов 1 000 геномов; и *(ii)* эталонная валидация выполняются 6 раз в год с использованием образцов КИ Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе; *(iii)* раз в два года в ходе внутреннего испытания рабочих процессов «Скиско Женетикс Инк.» с использованием общедоступных образцов 1 000 геномов.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

В образцах 1 000 геномов имеются известные данные о типировании HLA, полученные на основе полногеномных данных и других технологий генотипирования. Панель Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе признана правильным типированием с использованием совокупности результатов типирования HLA, представленных участвующими лабораториями, совместно использующими технологию типирования HLA с высоким, средним и низким разрешением. Результаты для каждой участвующей лаборатории оцениваются командой Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе путем сравнения типирования HLA с согласованными типами. Типирование в «Скиско Женетикс Инк.» выполняют с использованием Набора реагентов согласно соответствующему протоколу. Образцы типизированы в отношении HLA-A, B, C, DPA1, DPB1, DQA1, DQB1 и DRB1/3/4/5 для получения как минимум 3-зонного набора текста. Данные анализируются в программном обеспечении Gems-UI®.

Использование КИ Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе и образцов 1 000 геномов позволило провести слепое испытание HLA I и II классов и оценить результаты. Для всех испытаний специалисту или другому квалифицированному лицу были предоставлены планшеты с ДНК, полученные в рамках панели КИ Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе или панели 1 000 геномов в соответствии с проводимым испытанием.

Для проверки партии 23 образца из 1 000 геномов и 1 отрицательный контроль (без ДНК) были типированы с использованием панели ранее проверенных реагентов для типирования (SampleName-1) и новых реагентов, подлежащих валидации с использованием того же набора образцов (SampleName-2). По завершении испытаний результаты каждого испытания были независимо оценены техническим специалистом и сравнены руководителем лаборатории и вторым специалистом, аккредитованным ASHI. Удовлетворительным результатом испытания для типирования является 100 % соответствие между независимо полученными результатами для образцов.

Квалификационные испытания для валидации сравнивают образцы, предоставленные независимо Центром иммуногенетики Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе в рамках международного обмена ДНК HLA, где 6 образцов очищенной ДНК 6 раз в год отправляются в участвующие лаборатории для сравнения результатов методов HLA типирования на основе ДНК. Результаты каждого обмена оцениваются, и участники получают резюме по эффективности в каждом обмене и полное резюме результатов других участвующих лабораторий в общедоступном формате. «Скиско Женетикс Инк.» упоминается как центр № 264 на сайте отчетности Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе для всех участвующих лабораторий.

Двухгодичное испытание внутреннего рабочего процесса «Скиско Женетикс Инк.» проводится один раз в 6 месяцев в соответствии с двухгодичным обновлением набора правил IMGT/HLA известных типов HLA. Сорок шесть (46) образцов из 1 000 геномов и 2 отрицательных контрольных образца (без ДНК) были типированы по HLA с использованием недавно валидированной партии Набора реагентов. По завершении испытания результаты были независимо оценены специалистом и руководителем лаборатории. Результаты сравнивают с известными общедоступными результатами типирования и результатами, полученными в результате полугодового испытания.

Для всех испытаний, если результаты соответствовали стандарту спецификации эффективности 100 % соответствия, то валидация была признана удовлетворительной и полной. Если бы расхождения были обнаружены в ходе валидации партии или сравнений внутреннего испытания рабочего процесса, они были бы исследованы, и была бы предпринята попытка определить причину. Результаты, зарегистрированные в ходе КИ Калифорнийского университета в Лос-Анджелесе, возвращаются в лабораторию и становятся общедоступными, а несоответствующие

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

результаты оцениваются как неудовлетворительные (Неуд.). Расхождения в результатах исследуются, и результаты, которые считаются вероятными из-за лабораторной ошибки или других ограничений, повторяются специалистом до тех пор, пока не будут выполнены спецификации эффективности. Причину(-ы) несоответствия заносят в соответствующий журнал испытаний, и руководителю лаборатории поручают принять меры для дальнейшего испытания.

Метрика эффективности валидации Набора реагентов заключается в получении 100 % точности для генотипирования с допуском менее 1 % на неудачную реакцию образца (т.е. отсутствие продукта ПЦР и соответствующих данных) для учета ожидаемого показателя неэффективности ПЦР в лаборатории. Образцы для испытаний собирают в партии, и вся партия испытывается повторно, если сбой ПЦР превышает 1 %. Все испытания КИ проводят в двух повторениях.

В целом чувствительность, специфичность, воспроизводимость и точность Набора реагентов в сочетании с программным обеспечением GeMS-UI® была продемонстрирована путем сравнения результатов со стандартными панелями, которые обеспечивают сравнение со всеми другими технологиями для HLA типирования, используемыми в настоящее время, вместе с высоким, средним и низким разрешениями HLA типирования, как описано выше, в плане точности и специфичности испытаний. Сводные результаты приведены ниже.

Сводные результаты по специфичности, чувствительности, воспроизводимости и точности:

Описание испытания	Частота	Количество испытанных образцов	Совпадение с эталоном	Процент совпадения
Проверка партии [a]	Выпуск новой партии	48	48/48	100%
Валидация эталона [a,b]	6 раз в год	36	36/36	100%
Испытание внутреннего рабочего процесса [a, b]	2 раза в год	96	96/96	100%

[a] Испытание на воспроизводимость и точность

[b] Испытание на специфичность и чувствительность

[c] Все испытания включают типирование 11 локусов CI и CII

Диагностические характеристики по итогам проведения клинико-лабораторных испытаний: Точность МИ «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики», производства ООО «МедТех», Россия составила 100 %.

Диагностическая чувствительность МИ «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики», производства ООО «МедТех», Россия составила 100 %.

Диагностическая специфичность МИ «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики», производства ООО «МедТех», Россия составила 100 %.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Воспроизводимость результатов МИ «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики», производства ООО «МедТех», Россия составила 100 %.

12.4. Сведения о программном обеспечении.

Версия: 0.4.51 или выше.

Разработчик/производитель: ООО «МедТех», Россия.

Требования к аппаратному обеспечению и операционной системе (ОС): 8Гб оперативной памяти.

Подробные сведения о работе ПО приведены в Руководстве пользователя на программное обеспечение GeMS UI.

Программное обеспечение GeMS-UI доступно пользователю для скачивания по адресу: https://www.sciscloud.net.

13. Описание принадлежностей, медицинских изделий или изделий, не являющихся медицинскими, но предусмотренных для использования в комбинации с заявленным медицинским изделием.

Не входит в набор:

① Platinum™Taq ДНК-полимераза (5 ед/мкл).....Invitrogen™ (кат. № 10966018)

② Select-A size DNA Clean & Concentrator™.....Zymo Research® (кат. № D4080)[a]

③ Набор для анализа Quant-It™ PicoGreen® dsDNA .....Thermo Fisher Scientific® (кат. № P11496)[b]

④ Набор реагентов MiSeq V2.....Illumina® (кат. № MS-102-2003 или MS-103-1003)

⑤ 2н. гидроксид натрия (2н. NaOH).....J.T.Baker™ (кат. № 02-004-137)[c]

[a] Применимы альтернативные наборы для выбора размера, например, набор для *выбора размера* Qiagen® GeneRead (кат. № 180514).

[b] Применимы альтернативные методы количественной оценки, например, набор для анализа HS-днк Qubit™ dsDNA (кат. № Q32854).

[c] Применим альтернативный молекулярный класс NaOH, например, Honeywell® Fluka™ NaOH (2N) (кат. № 35254-1L).

Требования к оборудованию и материалам:

1. Одноканальные и многоканальные пипетки объемом от 2 мкл до 1 000 мкл (например, «Лайт», ThermoFisher, Россия).
2. 96-луночный термоциклер (например, GeneAmp ®9700).
3. Аппарат для электрофореза в агарозном геле (опционально).
4. Генетический секвенатор MiSeq, производства "Иллюмина, Инк.", США, РУ № РЗН 2014/1568 от 29.04.2014.
5. Центрифуга с ротором R-2 для планшетов (например, например, центрифуга медицинская лабораторная LMC-3000, «Биосан», Латвия) или аналогичная.
6. Микроцентрифуга для пробирок типа «Эппендорф» до 13 тыс. об/мин (например, «Elmi», Латвия, «Hettish», Германия).
7. Вортекс (например, Вортекс персональный V-1 plus («Биосан», Латвия).
8. Холодильник лабораторный с морозильной камерой с поддержанием температуры диапазоне от -15 до -25 °С.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

9. Ламинарный бокс (например, «БАВп-01 - «Ламинар-С»-1,2», «Ламинарные системы», Россия, класс биологической безопасности II тип А).
10. Микроцентрифужные пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл; градуированные, стерильные, свободные от ДНК-аз, РНК-аз и пирогенов (например, Axygen, США).
11. Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема с аэрозольным барьером 10 - 1000 мкл (например, Axygen, США).
12. Штативы для микропробирок объемом 1,5 мл и наконечников (например, Axygen, США).

14. Маркировка.

Ниже приведен список символов, используемых на маркировке изделия, а также их значение:

Символ	Значение	Определение
REF	Номер по каталогу	Указывает номер медицинского изделия по каталогу изготовителя, с помощью которого изделие может быть идентифицировано
LOT	Код партии	Указывает код партии, которым изготовитель идентифицировал партию изделия
	Использовать до	Указывает дату, после истечения которой изделие не должно использоваться
	Осторожно!	Указывает на необходимость для пользователя, ознакомиться с важной информацией инструкции по применению, такой как предупреждения и меры предосторожности, которые не могут по разным причинам быть размещены на медицинском изделии
IVD	Медицинское изделие для диагностики in vitro	Указывает, что медицинское изделие является изделием для диагностики in vitro
	Запрет на повторное применение	Указывает, что медицинское изделие предназначено для однократного применения
	Изготовитель	Указывает изготовителя медицинского изделия
	Дата изготовления	Указывает дату, когда было изготовлено медицинское изделие
	Обратитесь к инструкции по применению	Указывает на необходимость для пользователя ознакомиться с инструкцией по применению
Σ n	Содержимого достаточно для проведения n-тестов	Указывает совокупное количество тестов in vitro, которые могут быть выполнены с этим изделием

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Символ	Значение	Определение
	Предел температуры	Указывает границы температурного диапазона, в пределах которого медицинское изделие может быть применено без ущерба его безопасности
	Хрупкое, обращаться осторожно	Указывает, что медицинское изделие может быть сломано или повреждено, если с ним не обращаться осторожно
	Беречь от влаги	Указывает, что медицинское изделие необходимо защищать от влаги
	Вверх	Информирует о правильной конфигурации груза в вертикальном положении.

15. Упаковка.

Изделие поставляется в двух картонных упаковках.

Габаритные размеры набора реагентов (Упаковка 1) (ДхШхВ): 155 мм х 105 мм х 50 мм.

Масса набора реагентов (Упаковка 1): 181 г.

Габаритные размеры набора реагентов (Упаковка 2) (ДхШхВ): 155 мм х 105 мм х 50 мм.

Масса набора реагентов (Упаковка 2): 150 г.

Примечание: допустимое отклонение массы и габаритов набора реагентов ±5%.

В качестве транспортной тары должны использоваться одноразовые или многоразовые термоконтейнеры с хладоэлементами, отвечающие следующим требованиям:

Транспортная тара	Требования
Термоконтейнер одноразового использования	Внутренний объем до 92 л, толщина стенок не менее 40 мм
Термоконтейнер многоразового использования	Внутренний объем до 80 л, толщина стенок не менее 40 мм
Хладоэлементы	Для поддержания температуры внутри термоконтейнера от -25° до -15°С при воздействии положительной температуры внешней среды

16. Меры предосторожности.

- Не использовать компоненты Набора реагентов после истечения срока их годности.
- Перед началом работы с любыми компонентами внимательно ознакомиться с документами по безопасности, предоставленными производителями, а также актуальными инструкциями по их использованию.
- Во избежание контаминации ДНК необходимо пространственное разделение этапов пре- и пост-ПЦР: отдельные помещения, отдельные халаты, отдельные пипетки и другие лабораторные материалы.
- Персонал, проводящий исследования, должен проводить работы в защитной одежде – лабораторные халаты, средства индивидуальной защиты.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

- При работе с химическими реагентами свести к минимуму непосредственный контакт с ними: надевать халаты и перчатки.
- Не допускать вдыхания испарений от химических реагентов: не оставлять реагенты открытыми, работать с реагентами только в хорошо проветриваемых помещениях.
- В случае повреждения первичной упаковки реагента (пробирка) данный компонент не подлежит использованию и должен быть утилизирован в соответствии с требованиями пункта 21.

Рекомендации по контролю контаминации

- Во избежание контаминации ДНК настоятельно рекомендуется пространственное разделение пре- и пост-ПЦР зон.
- Всегда проводите работу в лабораторной одежде: халат с длинным рукавом и манжетами, одноразовые неопудренные медицинские перчатки.
- Приготовление всех рабочих смесей, в том числе смесей для ПЦР, должно проводиться с использованием наконечников с фильтрами.
- Всегда меняйте наконечник между разными образцами и баркодами.
- Для каждого этапа пробоподготовки используйте новые защитные пленки во избежание контаминации.
- Соблюдайте осторожность при работе с баркодами. Контаминация баркодов недопустима, поскольку приведет к неправильной идентификации генотипа.
- Меняйте перчатки при их контаминации баркодами или ДНК.
- Пипетируйте образцы медленно во избежание вспенивания.
- Протирайте рабочие поверхности до начала и после завершения работы деконтаминирующими средствами.
- Проводите регулярные деконтаминационные мероприятия для предупреждения загрязнения стоков реагентов и образцов.

17. Перечень и описание материалов медицинского изделия, вступающих в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента.

Не применимо для данного медицинского изделия. Материалы медицинского изделия не вступают в непосредственный или опосредованный контакт с организмом пациента (телом человека).

18. Информация о лекарственных препаратах и (или) фармацевтических субстанциях входящих в состав медицинского изделия.

В состав Набора реагентов не входят лекарственные препараты и фармацевтические субстанции.

19. Информация о материалах животного и (или) человеческого происхождения, входящих в состав медицинского изделия.

В состав Набора реагентов не входят материалы животного и (или) человеческого происхождения.

20. Описание стерилизации.

Не применимо.

Набора реагентов поставляется нестерильным и не подлежит стерилизации перед применением.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

В случае повреждения первичной упаковки реагента (пробирка) данный компонент не подлежит стерилизации или деконтаминации, а должен быть утилизирован в соответствии с требованиями пункта 21.

21. Порядок и условия утилизации медицинского изделия.

Набора реагентов следует утилизировать как потенциально опасные отходы в соответствии с требованиями законодательства об охране окружающей среды или иного законодательства соответствующей страны. Для обеспечения соответствия рекомендуется обратиться в местные государственные организации и/или аккредитованные компании по утилизации отходов для получения информации.

Набор реагентов, а также расходные материалы и образцы биоматериалов утилизируются как отходы класса Б (эпидемически опасные), в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий», раздел X.

После истечения срока годности картонная коробка, Инструкция по применению и Руководство пользователя на программное обеспечение GeMS UI утилизируются как отходы класса А (эпидемически безопасные), в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий», раздел X.

22. Стабильность и срок годности.

Каждый Набор реагентов имеет дату истечения срока годности, прикрепленную к номеру партии, которая составляет 1 год с даты изготовления.

Набор реагентов и его компоненты сохраняют свои эксплуатационные характеристики вплоть до даты истечения срока годности, указанной на этикетках соответствующих компонентов, при условии надлежащего соблюдения условий хранения и транспортирования, указанных в пункте 23 (Требования к транспортированию и хранению).

После размораживания и вскрытия Набор реагентов стабилен при хранении:

- при комнатной температуре в течение 4 часов;
- при условии хранения в холодильнике при температуре 4 °С в течение 24 часов.

23.Требования к транспортированию и хранению.

Набор реагентов следует транспортировать на сухом льду при температуре от - 15 до - 25 °С и после получения хранить при температуре от - 15 до - 25 °С.

Набор можно разморозить при комнатной температуре и использовать в течение 4 часов или разморозить и хранить в холодильнике при температуре 4 °С и использовать в течение 24 часов.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

24. Гарантии производителя.

Условия гарантии.

ООО «МедТех» гарантирует, что ее продукция не содержит дефектов материалов и производственного брака и соответствует техническим условиям на момент отгрузки. Если какая-либо продукция не соответствует техническим условиям или какой-либо производственный брак либо дефекты материалов были обнаружены в течение 30 дней с даты отгрузки, то, при условии проверки со стороны ООО «МедТех» и на основании письменного уведомления со стороны клиента, в качестве максимального размера ответственности компании ООО «МедТех» и исключительной меры возмещения для клиента, выполняется замена дефектной продукции по единоличному усмотрению компании ООО «МедТех».

Ограничение по гарантии.

Настоящая гарантия не распространяется на какие бы то ни было повреждения продукции, вызванные неправильным использованием, некорректным выбором места проведения работ или обусловленные действиями со стороны клиента или любых других лиц, если эти действия противоречат предлагаемым инструкциям или расчетным параметрам для продукции. Настоящая гарантия не распространяется на повреждения или дефекты, понесенные в ходе перемещения продукции, если эти операции производились кем бы то ни было, кроме официального представителя компании ООО «МедТех». Настоящая гарантия не распространяется на какие бы то ни было повреждения, полученные в результате несчастных случаев, вандализма, пожара, наводнений и прочих воздействий окружающей среды, равно как и любых других форс-мажорных обстоятельств. Гарантия также не распространяется на изделия, поставляемые сторонними производителями, такие как компьютеры и соответствующее программное обеспечение. По вопросам действия гарантии обращайтесь в службу по работе с клиентами компании ООО «МедТех».

25. Рекламации.

По всем вопросам, касающимся эксплуатации, качества изделия и др., на территории Российской Федерации следует обращаться:

Общество с ограниченной ответственностью «МедТех»
Адрес: 108814, г. Москва, километр Калужское шоссе 24-й (п. Сосенское), владение 1, строение 1, помещение XIV/эт. 7/ком. 43.
Телефон: +7 (495) 101-62-12
E-mail: info@medtehltd.com

26. Литературные ссылки.

1. Нельсон В.С., Пио С.В., Воган Д., и др. An integrated genotyping approach for HLA and other complex genetic systems. *Hum Immunol.* 2015;76(12):928-938.
2. Смит А.Г., Перейра С., Джарамилло А, и др. Comparison of sequence-specific oligonucleotide probe vs next generation sequencing for HLA-A, B, C, DRB1, DRB3/B4/B5, DQA1, DQB1, DPA1, and DPB1 typing: Toward single-pass high-resolution HLA typing in support of solid organ and hematopoietic cell transplant programs. *HLA.* 2019;94(3):296-306.
3. Бентли Д.Р., Баласубраманиан С, Свердлов Х.П., и др. Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry. *Nature.* 2008;456(7218):53-59.

Дата последнего пересмотра инструкции по применению: 16.09.2022.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Всего прошито скреплено
печать 26 лист(ов)

Общество с ограниченной ответственностью "МедТех"
ОГРН 1147746140035
ИНН 7705553046
МОСКВА

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ООО «МедТех»

_____ **А. Э. Губин**

«25» января 2022 г.

Руководство пользователя

на программное обеспечение

GeMS UI
версия: 0.4.51

2022

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Оглавление:

1.Наименование программного обеспечения 4

2. Сведения о производителе. 4

2.1 Производитель 4

2.2 Место производства 4

3. Версия программного обеспечения 4

4. Сведения о назначении программного обеспечения и принципах его действия. 4

5.Информация о потенциальных потребителях программного обеспечения. 5

6.Условия применения программного обеспечения. 5

7.Классификация программного обеспечения. 5

8. Технические характеристики программного обеспечения. 5

9. Описание рабочего процесса. 6

9.1. Загрузка программного обеспечения. 6

9.2. Настройка пользователя. 7

9.3. Открытие проекта. 7

9.4. Просмотр результата по образцам. 8

9.5. Оценка новых аллелей. 11

9.6. Утверждение результатов для образца. 12

9.7. Оценка предупреждающих флажков. 13

9.8. Описания предупреждающих флажков и аннотаций. 14

9.9. Глобальные параметры флажка и описание флажка. 17

9.10. SeqView. 20

9.11. HaploView. 22

9.12. DepthView. 23

9.13. Описание карты образцов. 24

9.14. Глобальные параметры 25

9.15. Обнаружение нулевого аллеля. 26

9.16. Распространенные ошибки последовательности MiSeq. 27

9.17. Создание отчета. 27

10. Сведения о процедуре инсталляции и деинсталляции программного обеспечения. 28

11. Сведения о порядке осуществления технического сопровождения и поддержки программного обеспечения. 28

12. Описание медицинских изделий, предусмотренных для использования в комбинации с программным обеспечением 28

13. Маркировка. 28

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

14. Перечень стандартов, применяемых производителем программного обеспечения..... 28
15. Меры предосторожности. 29
16. Риски применения медицинского изделия. 29
17. Информация о мерах и средствах защиты от несанкционированного доступа к программному обеспечению. 29
18. Утилизация. 29
19.Требования к транспортированию и хранению. 30
20. Гарантии производителя. 30
21. Рекламации. 30

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

1.Наименование программного обеспечения

Программное обеспечение GeMS UI.

Далее по тексту – Программное обеспечение, ПО GeMS UI.

Программное обеспечение GeMS UI входит в состав медицинского изделия «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики», производства ООО «МедТех», Россия.

Далее по тексту - Набор реагентов.

2. Сведения о производителе.

2.1 Производитель

Общество с ограниченной ответственностью «МедТех», Россия.

Адрес: 108814, г. Москва, километр Калужское шоссе 24-й (п. Сосенское), владение 1, строение 1, помещение XIV/эт. 7/ком. 43.

Телефон: +7 (495) 101-62-12

E-mail: info@medtehltd.com

2.2 Место производства

Scisco Genetics, 6840 54th Ave NE, Seattle, WA 98115-7753, USA.

3. Версия программного обеспечения.

Программное обеспечение GeMS UI, версия 0.4.51.

4. Сведения о назначении программного обеспечения и принципах его действия.

Gems-UI — это приложение для компьютера для просмотра, редактирования и валидации аннотированных результатов типирования HLA, полученных с помощью медицинского изделия «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики».

Набор реагентов предназначен для in vitro диагностики при проведении типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирвания) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) на платформе Illumina® MiSeq™ (для секвенирования экзонов с 1 по 7/8 для HLA класса I; экзонов с 1 по 4/5 для DPA1 и DPB1; и экзонов с 1 по 4/6 экзона для DQA1, DQB1 и DRB1/3/4/5). Результаты произведенного типирования используются в клинических целях для подбора донора и реципиента при трансплантации клеток и органов и для фундаментальных исследований.

Ключевые особенности программного обеспечения:

1. Результаты 3-зонного (6-значного) типирования результатов для 11 локусов HLA.
2. Идентификация всех известных клинически значимых экзонных и интронных кодируемых нулевых аллелей.
3. Простой анализ данных и отчетность.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

5.Информация о потенциальных потребителях программного обеспечения.

Программное обеспечение предназначено для использования в клинической деятельности для просмотра, редактирования и валидации аннотированных результатов типирования HLA, полученных с помощью медицинского изделия «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики», полученных при проведении типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирвания) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) на платформе Illumina® MiSeq™ (для секвенирования экзонов с 1 по 7/8 для HLA класса I; экзонов с 1 по 4/5 для DPA1 и DPB1; и экзонов с 1 по 4/6 экзона для DQA1, DQB1 и DRB1/3/4/5). Результаты произведенного типирования используются в клинических целях для подбора донора и реципиента при трансплантации клеток и органов и для фундаментальных исследований.

Программное обеспечение предназначено только для профессионального применения. Просмотр, редактирование и валидацию с использованием Программного обеспечения могут выполнять специалисты с высшим медицинским и биологическим образованием, допущенные к выполнению трудовых функций третьей и четвертой категории сложности согласно «Профессиональному стандарту специалиста клинической лабораторной диагностики»: врач клинической лабораторной диагностики, биолог, лабораторный генетик.

Пользователи Программного обеспечения должны иметь опыт работы с персональным компьютером на базе операционных систем Microsoft Windows 7 и выше на уровне квалифицированного пользователя.

Пользователь должен пройти предварительный инструктаж по работе с Программным обеспечением GeMS UI, проводимый сертифицированным представителем производителя.

6.Условия применения программного обеспечения.

Программное обеспечение предназначено для эксплуатации в условиях клинико-диагностических лабораторий, больниц и других лечебно-профилактических медицинских учреждений соответствующего профиля.

7.Классификация программного обеспечения.

Класс в зависимости от потенциального риска применения – 2б.

Класс безопасности программного обеспечения в соответствии с ГОСТ Р МЭК 62304-2013 – А.

8. Технические характеристики программного обеспечения.

Версия: 0.4.51.

Требования к аппаратному обеспечению и операционной системе:

Операционная система	- 32/64-разрядная Windows XP/Vista/7/8/10; - MacOS
Процессор	частота не ниже 2,0 ГГц, количество ядер 4
Графика	не ниже 1280 x 1024
ОЗУ	не менее 8Гб
Жесткий диск	объем не менее 256 Гб, скорость вращения шпинделя не менее 7200, кэш-память не менее 32 Мб

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Скорость запуска программного обеспечения: до 20 секунд.

9. Описание рабочего процесса.

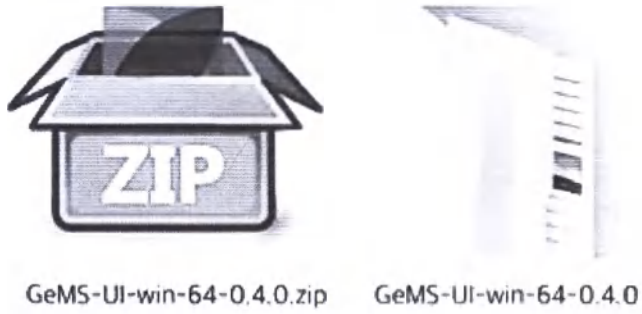
9.1. Загрузка программного обеспечения.

Программное обеспечение GeMS-UI доступно пользователю для скачивания по адресу: https://www.sciscloud.net.

Активация ПО происходит путем авторизации лицензионного ключа, предоставляемого производителем по запросу, после приобретения «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики» с Программным обеспечением GeMS UI.

GeMS-UI предоставляется в виде загружаемого zip-архива.

1. Загрузите архив программы, например, «GeMS-UI-0A0-external-win.zip»
2. Используйте архиватор, например, PeaZip или архивную утилиту, чтобы извлечь содержимое zip-файла.



3. Откройте извлеченную папку.
4. Запустите приложение:

В Windows откройте папку внутри извлеченной папки с тем же именем и папку внутри, например, «x86_64». Дважды щелкните версионированный модуль запуска, например «Gems-UI 0.4.51» и укажите тип файла «Приложение».

На MacOS переместите версионированное приложение, например «Gems-UI-0.4.0», на компьютер. При открытии приложения, если вам будет предложено разрешить доступ к файлам на вашем компьютере, нажмите «ОК».

Вниманию пользователей MacOS: для версий High Sierra и выше двойной щелчок по панели запуска не будет работать и выдаст ошибку. Есть два решения этой проблемы:

Решение 1 (удалить расширенные атрибуты):

i. откройте Терминал.
ii. введите «xattr -c», нажмите и перетащите панель запуска GEMS-UI в Терминал.
iii. нажмите клавишу Ввод, чтобы выполнить команду в Терминале.
iv. дважды щелкните модуль запуска и программа откроется.

Решение 2 (загрузка без браузера):

i. откройте Терминал.
ii. введите «curl -o ~/Desktop/*[имя zip-архива][запросите url у «Скиско»]*».

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

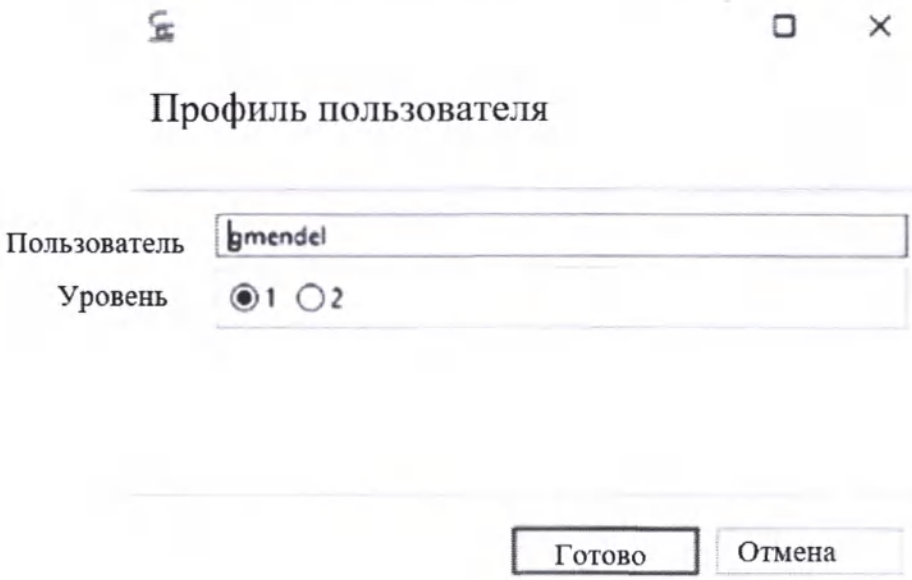
iii. нажмите Ввод, и архив будет загружен на ваш компьютер.

iv. извлеките архив, откройте папку GeMS-UI и дважды щелкните панель запуска.

9.2. Настройка пользователя.

Этот параметр позволяет разным пользователям отслеживать утверждение образцов.

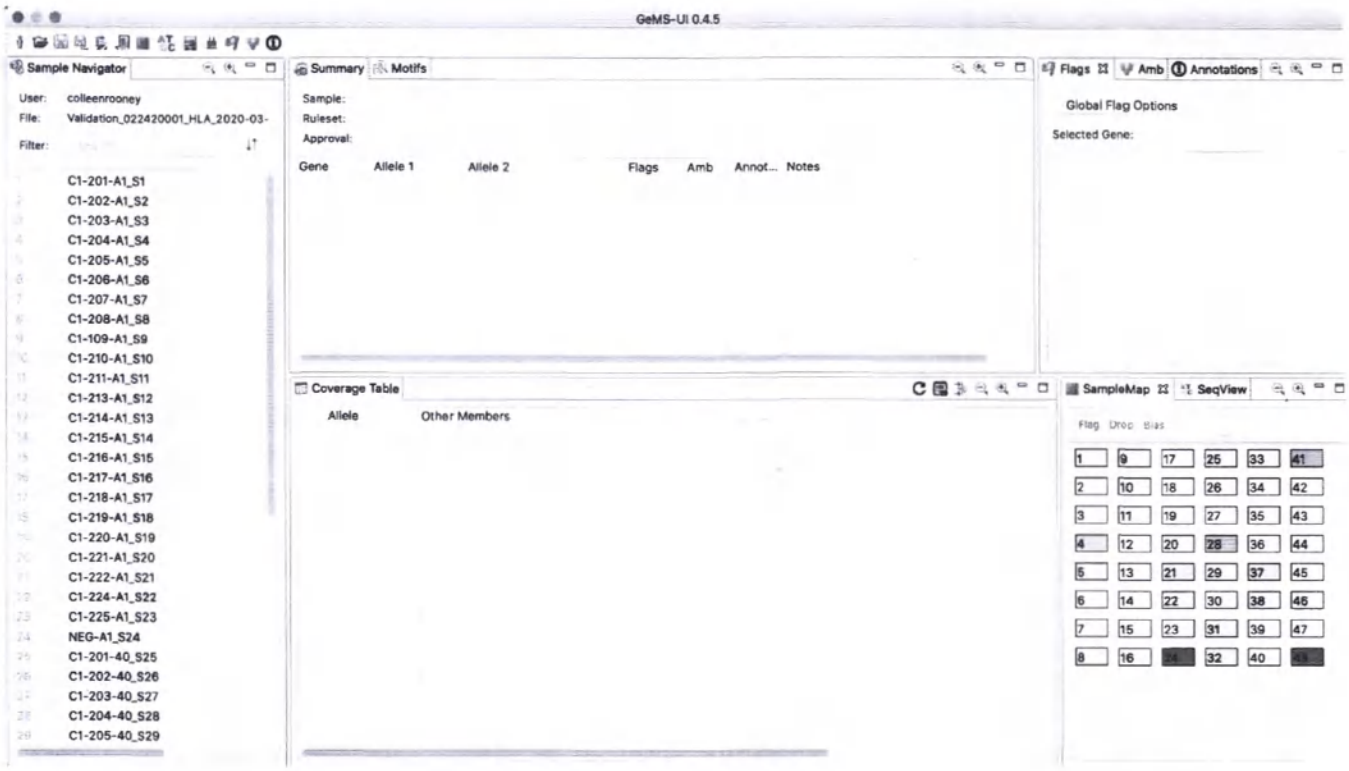
1. Нажмите или «Настроить пользователя» в меню «Файл».
2. Во всплывающем окне введите имя пользователя для регистрации утверждения образца.
3. Выберите уровень пользователя, например, «Уровень 1» для первоначального рассмотрения и «Уровень 2» для окончательного рассмотрения.
4. Нажмите «Готово», и соответствующий флажок будет активен на панели «Сводки».



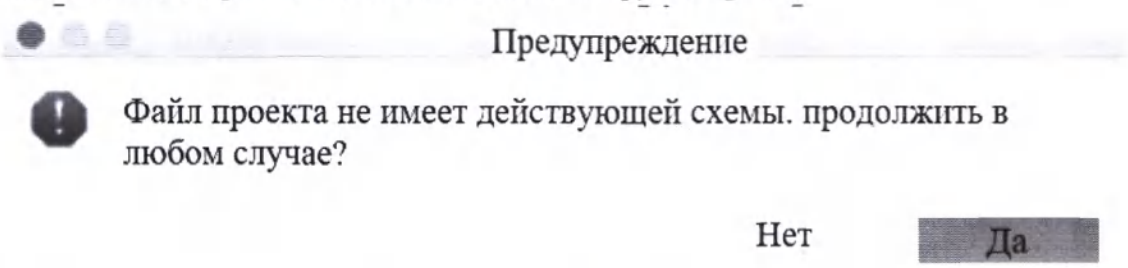
9.3. Открытие проекта.

1. Нажмите или «Открыть проект» в меню «Файл».
2. Перейдите к файлу result.gz или .xml и нажмите «Открыть».
3. Появится всплывающее окно проверки импорта, затем образцы заполнят Панель навигации.

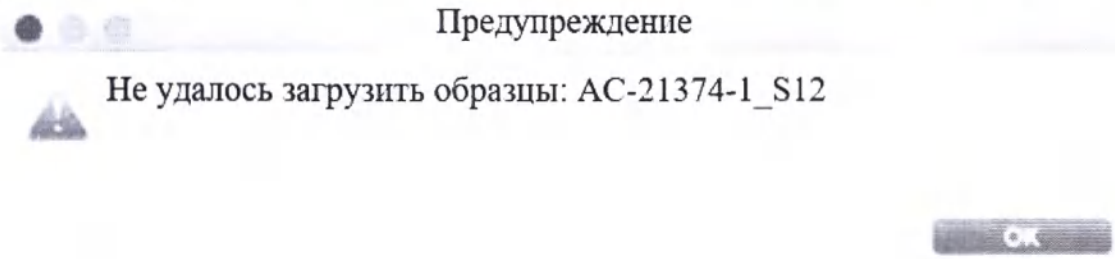
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



4. Если при проверке xml-файла будет обнаружена ошибка, появится предупреждение, и пользователь все равно сможет попытаться загрузить файл.



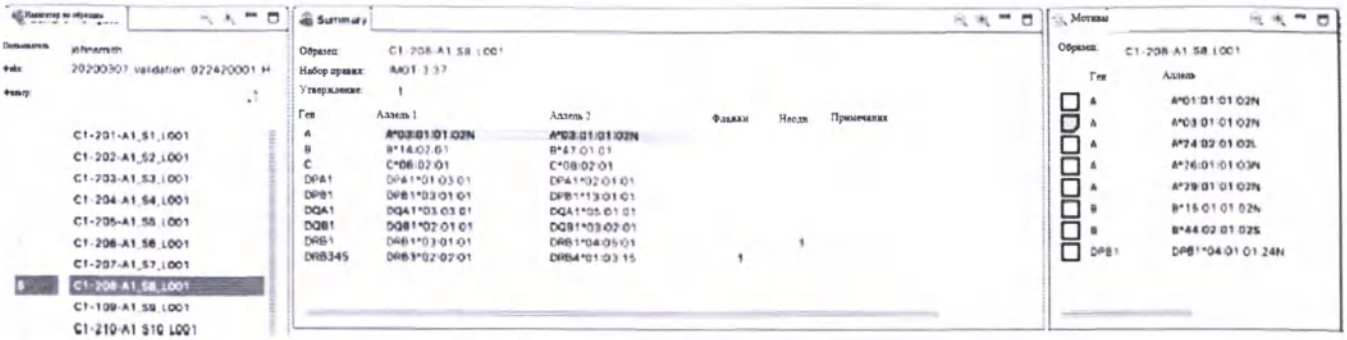
5. Если один образец не может быть проанализирован с помощью GEMS-UI, пользователь будет предупрежден, а остальная часть проекта все еще может быть загружена.



9.4. Просмотр результата по образцам.

1. Выберите образец на панели навигации, чтобы заполнить панель «Сводки».

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



- **Ген**: Каждая строка панели «Сводки» соответствует разным генам.
- **Аллель 1** и **Аллель 2:**
  - Варианты экспрессии выделены синим цветом
    (Для вариантов экспрессии, требующих получения интронов, обнаружение SNP указывается путем наведения курсора мыши на соответствующий тип в столбце аллелей. Ознакомьтесь с разделом «Определение вариантов» для получения более подробной информации.)
- **Флажки**: В этом столбце указано количество предупреждающих флажков для каждого гена.
  - Можно открыть описание флажка, чтобы просмотреть подробную информацию о нем.
- **Неодн.**: Количество неоднозначностей для каждого гена указано в этой колонке.
  - Можно открыть описание неоднозначности, чтобы просмотреть подробную информацию о ней.
- **Примечания**: Во время просмотра данных пользователи могут прикреплять примечания к каждому результату, щелкнув ячейку в столбце «Примечания», написав текст и нажав «Ввод», чтобы сохранить запись.

! Все изменения, внесенные пользователем в проект, должны быть сохранены нажатием кнопки «Сохранить» (перезаписывает текущий проект) или «Сохранить как» (создает новый файл).

2. Выберите строку на панели «Сводки», чтобы заполнить Таблицу охвата.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Ген	Аллель 1	Аллель 2	Флажки	Неодн.	Аннот.	Примечания
A	A*01:03:01	A*69:01:01				
B	B*51:01:01	B*73:01				
C	C*15:05:01	C*16:02:01				
DPA1	DPA1*01:03:01	DPA1*01:03:01				
DPB1	DPB1*03:01:01	DPB1*104:01:01				
DQA1	DQA1*01:02:02	DQA1*05:05:01				
DQB1	DQB1*03:01:01	DQB1*05:02:01				
DRB1	DRB1*11:01:01	DRB1*15:01:01				
DRB345	DRB3*02:02:01	DRB5*01:01:01				

Таблица охвата

Аллель	E1	E2	E3	E4	Другие члены
DQA1*05:05:...	175	412	166	115	DQA1*05:05:01:02,DQA1*05:05:01:03,DQA1*05
DQA1*01:02:0...	103	140	163	96	DQA1*01:02:02:02,DQA1*01:02:02:03,DQA1*01:
DQA1*05:09	0	412	166	115	DQA1*05:13
DQA1*05:05:02	175	412	0	115	DQA1*05:08,DQA1*05:14
DQA1*05:11	175	412	166	0	
DQA1*01:02:05	103	0	163	96	DQA1*01:16N
DQA1*01:02:04	0	140	163	96	

Кнопки Таблицы охвата:

Сброс сортировки кандидатов

Просмотр всех кандидатов, включая редких кандидатов, скрытых по умолчанию

Фильтр кандидатов, которые выпали из поиска

- Каждая строка в Таблице охвата представляет аллель-кандидат.
- Числа в каждом столбце экзона указывают глубину охвата последовательностей для этого экзона.
- По умолчанию кандидаты сортируются по алгоритму ранжирования.
- Для сортировки по столбцу щелкните заголовок столбца. Чтобы сбросить сортировку, нажмите кнопку сбросить.
- Кандидаты, выбранные автоматически с помощью GeMS-UI, будут показаны с установленным флажком.
- Пользователь может изменить выбранного кандидата, щелкнув поле в столбце «Аллель», которое будет выделено желтым цветом при выборе.
- Предупреждающие флажки могут появляться или исчезать при изменении выбора (см. раздел о предупреждающих флажках для получения более подробной информации). Автоматический выбор типа создает предупреждающие флажки, когда ожидается, что пользователь оценит результат, на который может повлиять
  - Низкая глубина охвата
  - Смещение аллелей
  - Неоднозначности из-за неизвестных последовательностей или низкой глубины охвата
  - Несоответствующие позиции (SNP)
  - Новые аллели

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Выбранные типы имеют цветные ячейки, при этом в каждом столбце последовательности экзонов, имеющие идентичные последовательности, имеют одинаковый цвет.

9.5. Оценка новых аллелей.

Если при оценке результата в представлении последовательности и глубины окажется новая аллель, вы можете прокомментировать ее как таковую, щелкнув правой кнопкой мыши на строке кандидата в просмотре охвата.

Таблица охвата

Аллель	E1	E2	E3	E4	Другие члены
DRB1*08:03:...	349	298	479	745	DRB1*08:03:02:02
DRB1*11:01:0	349	298	479	257	DRB1*11:01:01:02,DRB1*11:01:01:03,DRB1*11:01:0
DRB1*08:			479	745	DRB1*08:02:01:01,DRB1*08:02:01:02,DRB1*08:0
DRB1*03:02:01	349	0	479	257	DRB1*08:77,DRB1*11:01:02,DRB1*11:02:01,DRB1*
DRB1*14:141	349	531	0	257	
DRB1*08:01:07	?	0	479	745	DRB1*08:60N,DRB1*08:63,DRB1*08:90
DRB1*14:177	349	0	479	?	
DRB1*08:97	?	298	0	745	
DRB1*11:01:11	?	0	479	257	DRB1*11:154,DRB1*11:169N,DRB1*11:170,DRB1*11

Добавить/изменить новую аллель

После щелчка правой кнопкой мыши откроется диалоговое окно. Если с кандидатом не связана новая аллель, он будет выглядеть как изображение слева. Любые автоматически обнаруженные мутации появятся в диалоговом окне. Если мутация не обнаруживается автоматически GEMS-UI, вы можете добавить ее в поле «Добавить мутации». После завершения нажмите «Создать новую аллель», чтобы создать аллель. Если с кандидатом связана новая аллель, диалоговое окно будет выглядеть как изображение справа, и у вас будет возможность удалить новую аллель.

Как только новая аллель будет добавлена, к любым аллелям, к которым она применяется, будет добавлено имя со строковым представлением новой аллели, а столбец в сводной таблице соответствующих аллелей станет синим.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Сводка Мотивы

Образец: C1-201-A1_S1

Набор правил: IMGT-3.37

Утверждение:

Ген	Аллель 1	Аллель 2	Флажки	Неодн.	Аннот.	Изм.
A	A*02:01:01	A*8 Аллель 2	2		1	
B	B*14:01:01	B*44:03:01				
C	C*04:01:01	C*08:02:01				
DPA1	DPA1*01:03:01	DPA1*02:01:01				
DPB1	DPB1*02:01:02	DPB1*02:01:02			1	
DQA1	DQA1*02:01:01	DQA1*05:01:01				
DQB1	DQB1*02:01:01	DQB1*02:02:01				
DRB1	DRB1*03:04:01	DRB1*07:01:01				
DRB345	DRB3*01:01:02-i301AT-s5C	DRB4*01:01:01	1			2

Если новая аллель не соответствует мутациям, автоматически обнаруживаемым GEMS-UI, появится флажок, предупреждающий вас об этом. Этот флажок показан на изображении ниже. Если мутации определили какие-либо флажки до того, как новый аллель был записан, такие флажки будут удалены. Например, флажок «Неполный охват» и флажок «Несоответствующие позиции», которые присутствуют в случае SNP.

Флажки

Глобальные параметры флажка

Выбранный ген: DRB345

DRB345

Пересмотреть все флажки

1. Новая аллель DRB3*01:01:02:01-i301AT-s5c не покрывает кандидата DRB3*01:01:02:01

A

Пересмотреть все флажки

1. Низкое количество гомозигот на E5

2. 0 считываний на E5 A*80:05

9.6. Утверждение результатов для образца.

1. После проверки результатов пользователь может утвердить результат для образца, установив флажок 1 или 2 на панели «Сводки».

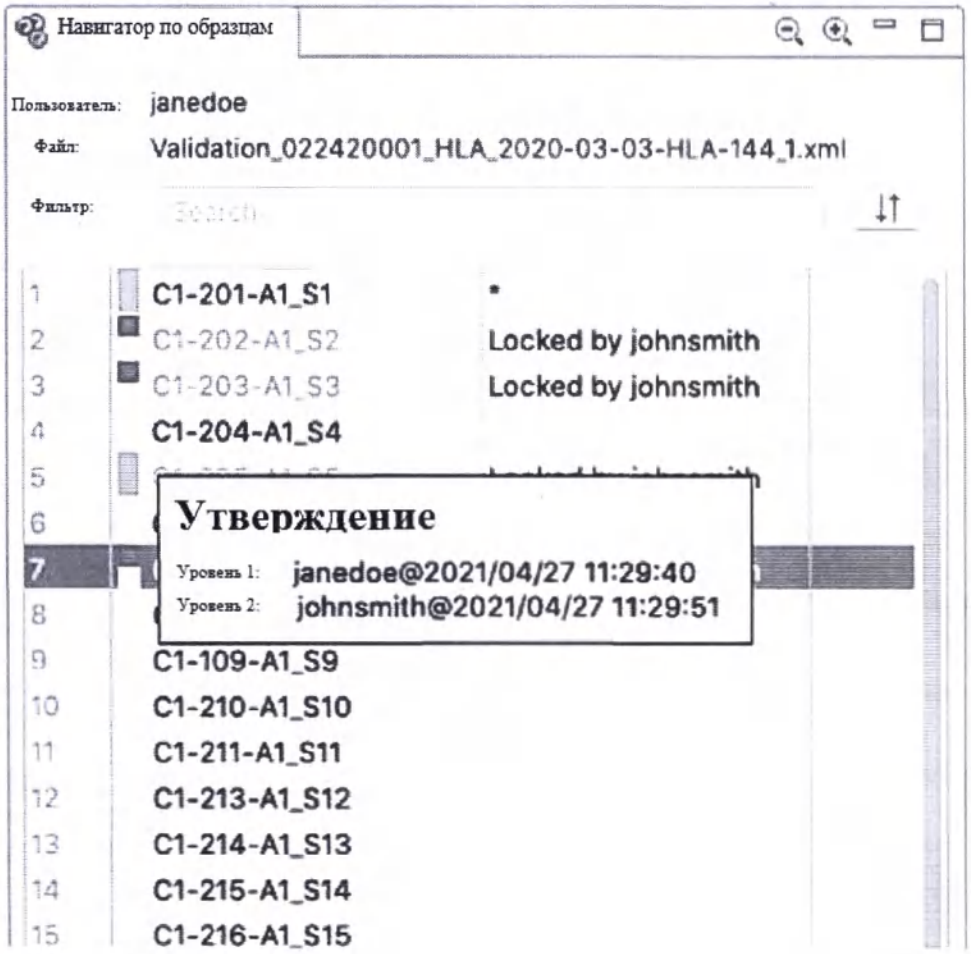
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

2. Нажатие на поле «Утвердить» обновит панель навигации, отобразив зеленое поле рядом с образцом.

- Утверждение уровня 1 обозначается нижней зеленой рамкой на панели навигации рядом с названием образца.
- Утверждение уровня 2 обозначается верхней зеленой рамкой на панели навигации рядом с названием образца.

3. Статус утверждения должен быть сохранен пользователем с помощью функции «Сохранить» или «Сохранить как» .

4. Журналы утверждения (дата и лицо) отображаются при наведении указателя мыши на имя образца.



9.7. Оценка предупреждающих флажков.

Флажки привлекают внимание пользователя к данным, которые необходимо проверить вручную.

1. Количество предупреждающих флажков для каждого результата гена отображается в столбце «Флажки» Сводной таблицы, также там представлена подробная информация в описании флажков.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Сводка | Мотивы

Образец: C1-109-A1_S9

Набор правил: IMGT-3.37

Утверждение:

Ген	Аллель 1	Аллель 2	Флажки	Неодн.	Аннот.	Примечания
A	A*03:01:01	A*03:01:01				
B	B*07:02:01	B*41:02:01				
C	C*07:02:01	C*17:03:01	2			
DPA1	DPA1*01:03:01	DPA1*01:03:01				
DPB1	DPB1*04:01:01	DPB1*04:01:01			1	
DQA1	DQA1*01:02:01	DQA1*05:05:01				
DQB1	DQB1*03:01:01	DQB1*06:04:01				
DRB1	DRB1*13:02:01	DRB1*13:03:01				
DRB345	DRB3*01:01:02	DRB3*03:01:01				

Таблица охвата

Аллель	E1	E2	B23	E3	E4	E5	E67	Other Me
C*07:02:01:01	18	222	242	469	62	59	121	C*07:02:(
C*17:03:01:01	55	Предупреждение	76	413	24	35	97	C*17:03:(
C*07:02:80	0	Низкий охват	42	469	62	59	121	C*07:02:9
C*07:02:103	18	222	242	469	0	59	121	C*07:02:1

2. Цветные значения глубины охвата, например, пурпурный, как показано выше, указывают на предупреждения для каждой цели.

- Таблица охвата: наведите курсор мыши на значения глубины охвата, чтобы увидеть конкретное предупреждение
- Виды инструментов (см. следующие разделы):
  - SeqView: Совмещение последовательности кандидатов друг с другом и оценка несоответствия последовательностей
  - HaploView: Оценка потенциальных рекомбинантных продуктов
  - DepthView: Оценка глубины охвата и несоответствующих позиций
  - SampleMapView: Визуализация макета планшета с цветами, указывающими флажки, выброшенные цели, смещение и редкие аллели.

9.8. Описания предупреждающих флажков и аннотаций.

GeMS реализует валидацию данных и генерирует несколько предупреждающих флажков для пользователей для оценки автоматического выбора аллелей. Многие предупреждающие флажки предназначены для информирования пользователей о несовершенных результатах секвенирования и низкой достоверности автоматического выбора аллели. Эти предупреждающие флажки не следует использовать для отмены выбора кандидата. Пользователям рекомендуется использовать предоставленные дополнительные инструменты для оценки этих данных и планирования

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

дальнейших действий, если требуется более высокая достоверность выбора аллели. Ниже приведен список распространенных предупреждающих флажков и их значений.

1. **«0 считываний»:** Это предупреждение появляется, когда выбранные аллели-кандидаты, по-видимому, имеют нулевые считывания в указанном экзоне. Иногда это является результатом неудачной амплификации определенных экзонов. Этот предупреждающий флажок является шагом контроля качества в нашем процессе проверки данных, чтобы обеспечить идеальную ситуацию, когда каждая последовательность экзонов охватывается при выборе аллеля-кандидата. Пользователям следует подумать, повлияет ли отсутствующая информация об указанных экзонах на выбор аллеля-кандидата.

2. **«Сильное смещение»:** Предупреждающий флажок указывает на большую разницу (>5 раз) в глубине охвата между указанными экзонами двух выбранных аллелей (назначенных как гетерозиготные). Этот флажок появляется только тогда, когда указанный экзон является единственным определяющим экзоном, который может разрешить вызов аллеля. Это повышает вероятность того, что низкая глубина охвата может быть шумом, и выборка может быть гомозиготной.

3. **«Неполный охват»:** флажок предупреждает, что указанные экзоны содержат низкую глубину охвата (менее 10 раз) в определенных положениях. Пользователи должны использовать SeqView и DepthView для дальнейшего определения того, являются ли эти позиции с низким охватом определяющей/отличительной последовательностью для аллеля и могут ли повлиять на выбор аллели.

4. **«Обнаружена вставка»:** Этот флажок устанавливается, когда обнаружена вставка со средней глубиной, превышающей пороговое значение, установленное в настройках. Пороговое значение по умолчанию составляет 90 %.

5. **«Ошибка связи»:** Этот предупреждающий флажок появляется, когда нарушаются определенные связи между аллелями. Например, общее правило связи между аллелями DRB1 и DRB3, 4 или 5. В литературе описана связь между конкретными аллелями DRB1 с DRB3, 4 или 5. Поэтому эта связь используется в качестве дополнительного набора правил для проверки нашего автоматического выбора аллелей. Например, аллели DRB1*15 тесно связаны с DRB5, и поэтому, если DRB5 отсутствует при обнаружении DRB1*15, появляется предупреждающий флажок.

6. **«Низкий охват»:** Этот флажок предупреждает о средней глубине охвата менее 25 для целевой последовательности в выбранном кандидате. Все целевые последовательности со средней глубиной охвата ниже этого порога указаны в сводке пурпурным текстом.

7. **«Низкое количество гомозигот»:** Это предупреждение появляется, когда глубина охвата указанных экзонов, единственного присутствующего экзона (гомозиготного экзона), ниже порогового значения 75 считываний.

8. **«Пары с низкой поддержкой»** Этот флажок включен только в том случае, если в диалоговом окне настроек включена опция «Использовать пользовательские пороговые значения». В диалоговом окне «Настройки» задаются два пороговых значения: одно для первичных целей и одно для вторичных целей. Эти цели определяются в диалоговом окне «Настройки». Если средняя глубина цели ниже настраиваемого порога, этот флажок будет сброшен.

9. «**Несоответствующая(-ие) позиция(-ии)»:** Этот флажок появляется, когда в указанных экзонах обнаруживается высокий охват несоответствий последовательности. Точный процент определяется в меню предпочтений, и значения по умолчанию составляют 30 % для гомозиготных и 20 % для гетерозиготных. Это предупреждение указывает либо на наличие новых аллелей, либо на наличие ошибок/артефактов в последовательности. Пользователям рекомендуется использовать SeqView для просмотра глубины охвата конкретных позиций. Ошибки последовательности, как

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

правило, возникают в случайных последовательностях с низкой глубиной охвата (<20X) в нескольких позициях в экзоне. В некоторой степени несоответствующая последовательность с большим охватом глубины связана с артефактами последовательности. Например, обычно наблюдается замена G в положении 91 экзона 2 локуса HLA-B. Мы обнаружили, что этот артефакт секвенирования происходит именно в MiSeq версии 2.

10. **«Неудовлетворительные пары поддержки»** Этот флажок включен только в том случае, если выбрано «Использовать пользовательские пороговые значения» и будет сброшен, если средняя глубина меньше 30.

11. **«Возможная гаплоидная неоднозначность»:** Этот флажок предупреждает о возможной неоднозначности гаплоидного отбора из-за его низкого охвата в определяющем экзоне и наличия дополнительных аллелей с аналогичным низким охватом. Низкий охват снижает достоверность выбора аллели и активирует флажок неоднозначности.

12. **«Возможная рекомбинация»:** Этот флажок специально предупреждает о возможном артефакте рекомбинации при типировании из-за их высокого сходства в последовательности. Рекомбинированная аллель (артефакт ПЦР) имеет тенденцию появляться при низкой глубине охвата, но все равно проходит фильтр шума.

13. **«Уникальная целевая последовательность»:** Этот флажок указывает, что существует уникальная целевая последовательность, которая не охватывается выбранными кандидатами. Эти последовательности могут быть вызваны рекомбинацией, загрязнением и т.д.

14. **«Присутствует вариант»:** Этот флажок указывает, что вариант был выбран на основе SNP в интронной области. Аллель будет иметь синий фон в сводной таблице, детали можно просмотреть в представлении мотива. Также можно отменить выбор варианта в представлении мотива, что приведет к тому, что то, что считается диким типом для этого варианта, будет представлено в сводной таблице.

Описания аннотаций

GeMS реализует проверку данных и создает несколько аннотаций для пользователей, которые предоставляют некритичную информацию.

1. «**Известный артефакт последовательности»:** Эта аннотация, как и флажок «Несоответствующая(-ие) позиция(-ии)», появляется, когда в указанных экзонах обнаруживается высокий охват несоответствий последовательности. Точный процент определяется в меню предпочтений, и значения по умолчанию составляют 30 % для гомозиготных и 20 % для гетерозиготных. Это предупреждение указывает на то, что несоответствие позиции может быть объяснено документированным артефактом последовательности.

2. **«Устранить диплоидную неоднозначность»:** Эта аннотация указывает, что диплоидная неоднозначность была устранена дополнительной областью.

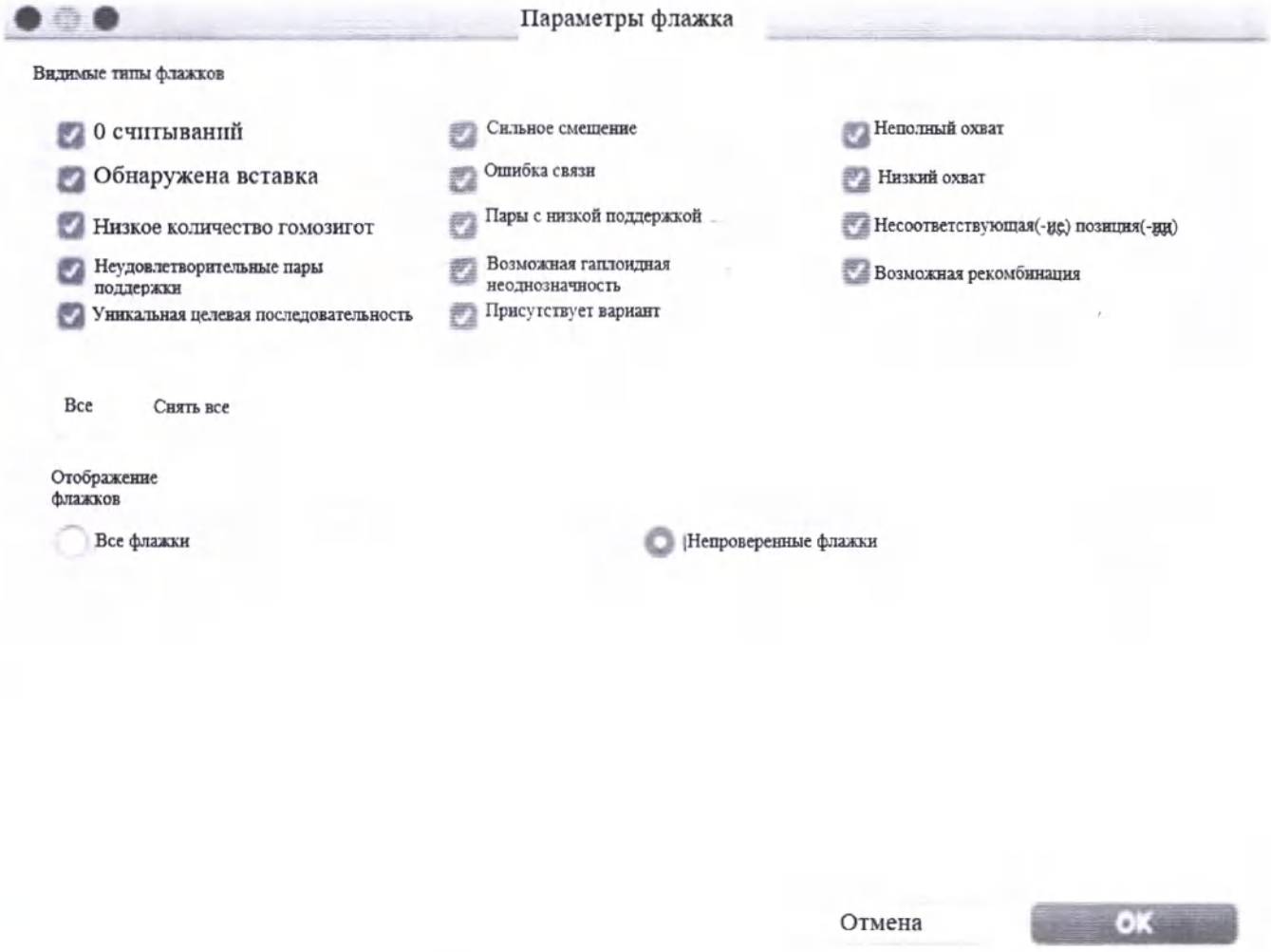
3. **«Устранить гаплоидную неоднозначность»:** Эта аннотация указывает, что гаплоидная неоднозначность была устранена дополнительной областью.

4. **«Уникальная целевая последовательность»:** Эта аннотация указывает на то, что существует уникальная целевая последовательность, которая не охватывается выбранными кандидатами. Эти последовательности могут быть вызваны рекомбинацией, загрязнением и т.д. Если эта целевая последовательность не имеет описанной связи с какой-либо существующей последовательностью, это будет отображаться в виде флажка.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

9.9. Глобальные параметры флажка и описание флажка.

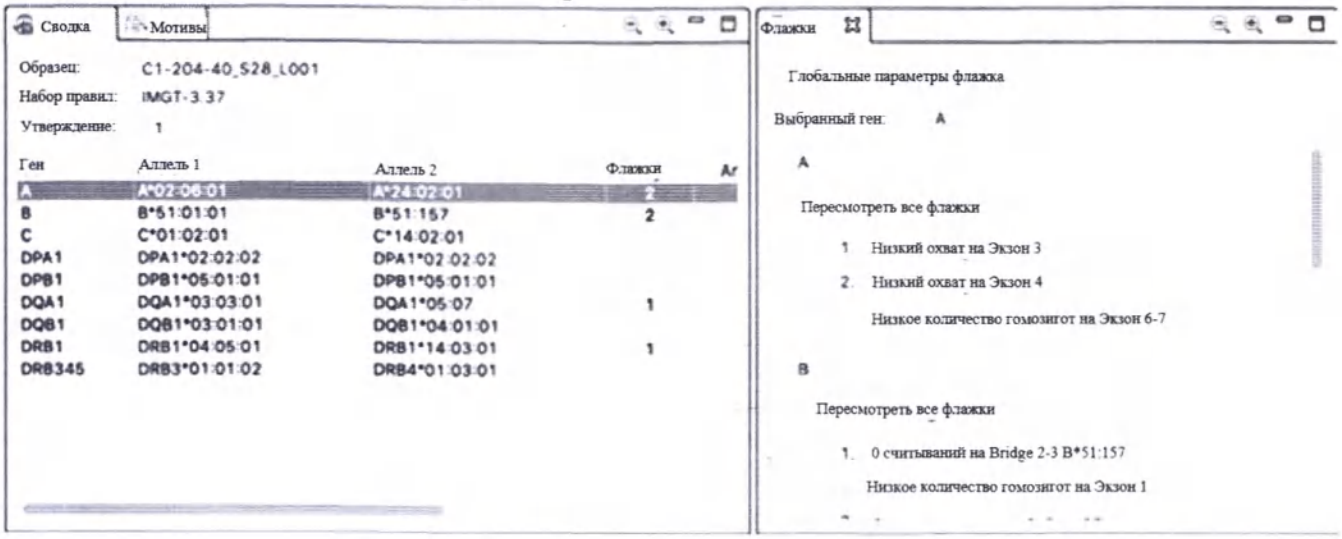
В описании флажка есть возможность изменить глобальные параметры флажка. Это определяет, какие флажки включены в число, видимое в сводной таблице, и какие флажки показаны на карте образцов.



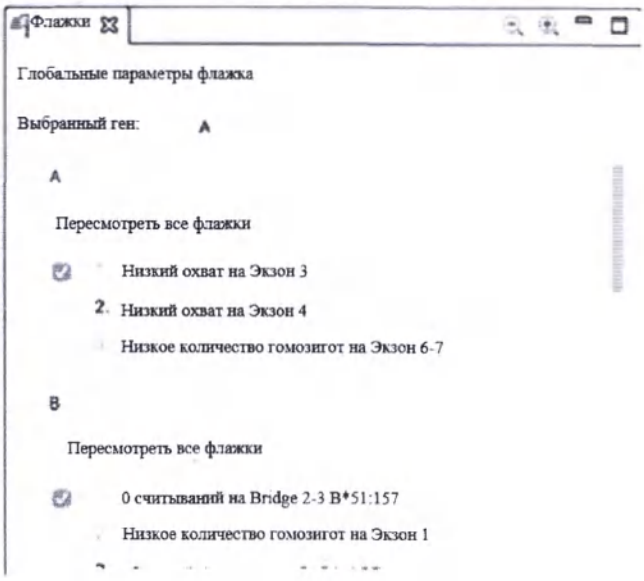
Настройки по умолчанию для каждого сеанса должны отображать все флажки, которые не были просмотрены. Можно выбрать любую комбинацию флажков, включая опцию выбора «Критических флажков» с помощью кнопки «Критические».

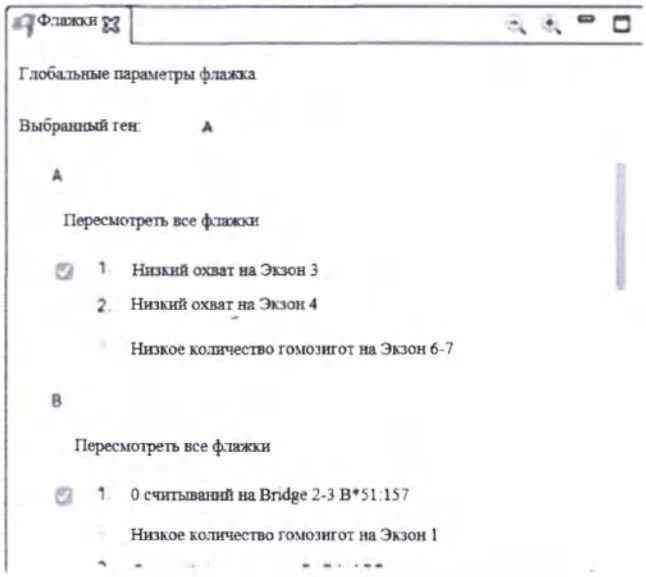
Типы флажков, которые не выбраны в диалоговом окне «Глобальные параметры флажка», по-прежнему видны в описании флажка, но отображаются серым шрифтом, чтобы указать, что они не видны в других представлениях.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



По умолчанию просмотренные флажки не будут видны в других представлениях. Это можно изменить, выбрав «Все флажки» в диалоговом окне «Глобальные параметры флажка».



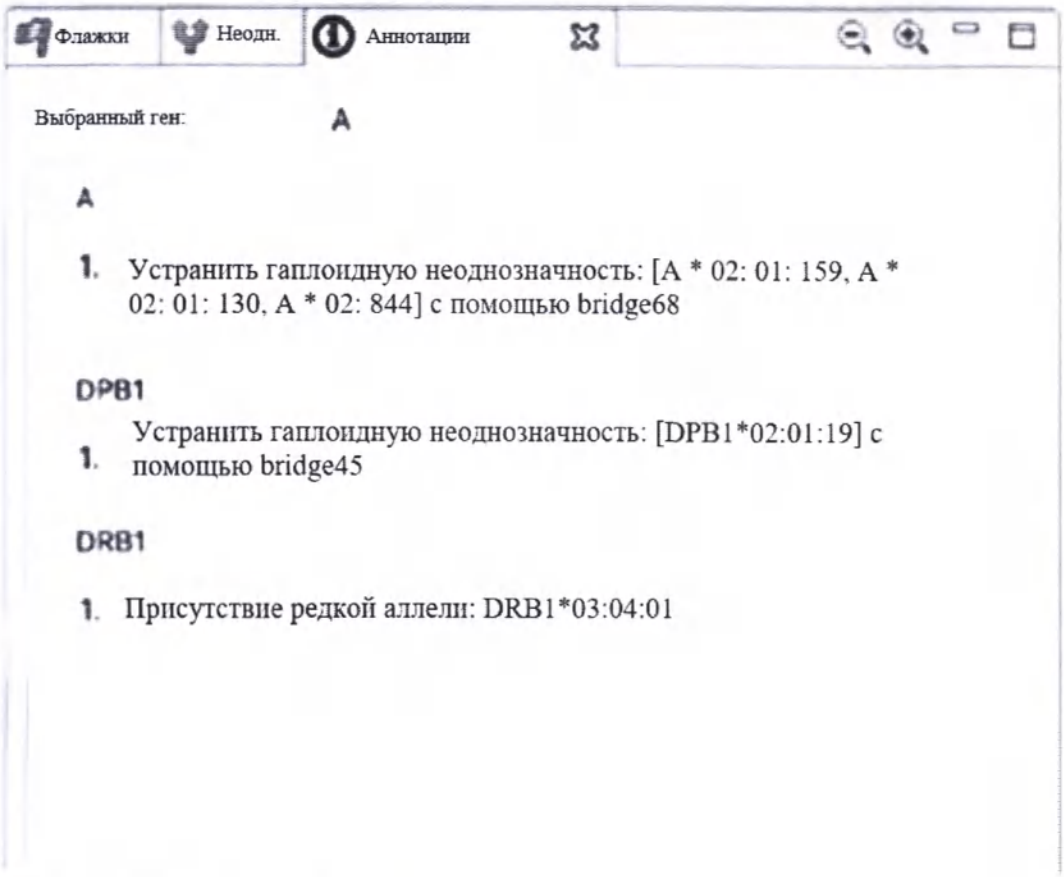


Просмотренные флажки не сохраняются при закрытии файла и предназначены для отслеживания того, какие флажки были оценены пользователем в течение одного сеанса.

Описание аннотаций

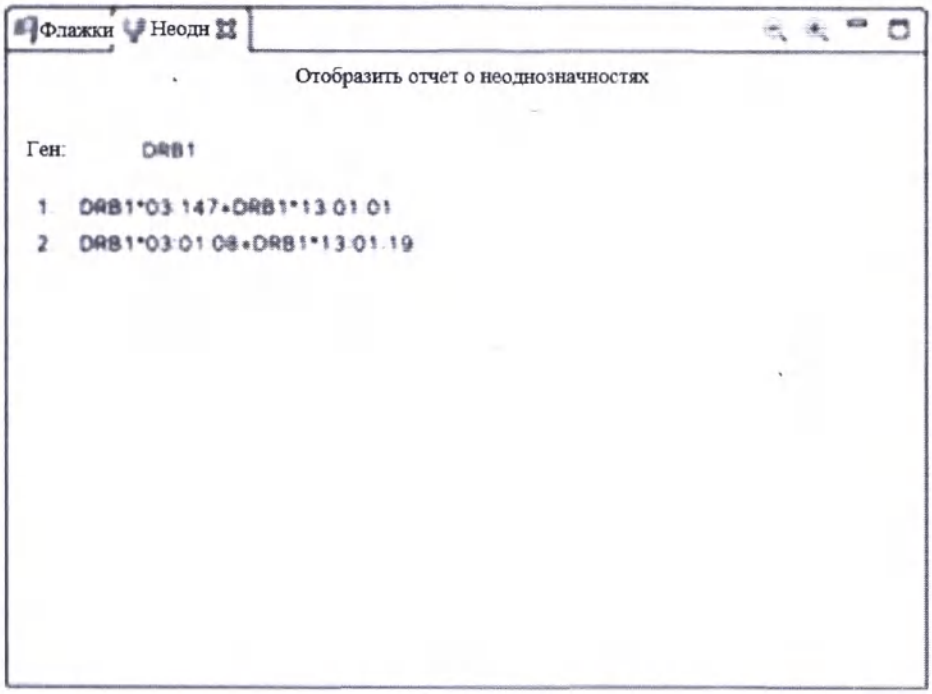
Вид аннотаций такой же, как и описание флажка, но без возможности просмотра аннотаций. Аннотации предназначены для ознакомления, но не требуют проверки пользователем для подтверждения результата. Существует 5 типов аннотаций. Подробную информацию о каждой аннотации см. в описаниях аннотаций.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU



Описание неоднозначностей

Описание неоднозначностей автоматически заполняется на основе выбранных кандидатов. Описание неоднозначности имеет два параметра.



Эта конфигурация используется по умолчанию и отображает все возможные диплотипы, не включая диплотип, представленный столбцами «Аллель 1» и «Аллель 2» сводной таблицы. Этот список не включает гаплоидные неоднозначности, которые являются другими членами кандидата другого типа зоны 3. Эти неоднозначности отображаются в сводной таблице в виде списка, разделенного запятыми (показано ниже).

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Ген:	Аллель 1	Аллель 2
A	A*02:01:07,A*02:01:106,A*02:01:129,A*02:01:18...	A*02:06:25
B	B*44:02:01	B*57:03:01
C	C*05:01:01	C*06:02:01

Флажки Неодн.

Отобразить отчет о неоднозначностях

Ген: DRB1

Неоднозначности аллели 1

1. DRB1*03:147

Неоднозначности аллели 2

Диплоидные неоднозначности

1. DRB1*03:01:08+DRB1*13:01:19

Чтобы отобразить вторую конфигурацию представления неоднозначности, нажмите кнопку «Отобразить отчет о неоднозначностях». Это описание разделяет неоднозначности на три категории, на которые они разделены для окончательного отчета. Этими категориями являются «Неоднозначности аллели 1», «Неоднозначности аллели 2» и «Диплоидные неоднозначности». Эта конфигурация включает в себя гаплоидные неоднозначности, не включенные в конфигурацию «Отображать все возможные диплотипы».

9.10. SeqView.

Совместите последовательности кандидатов и проверьте возможные несоответствующие позиции.

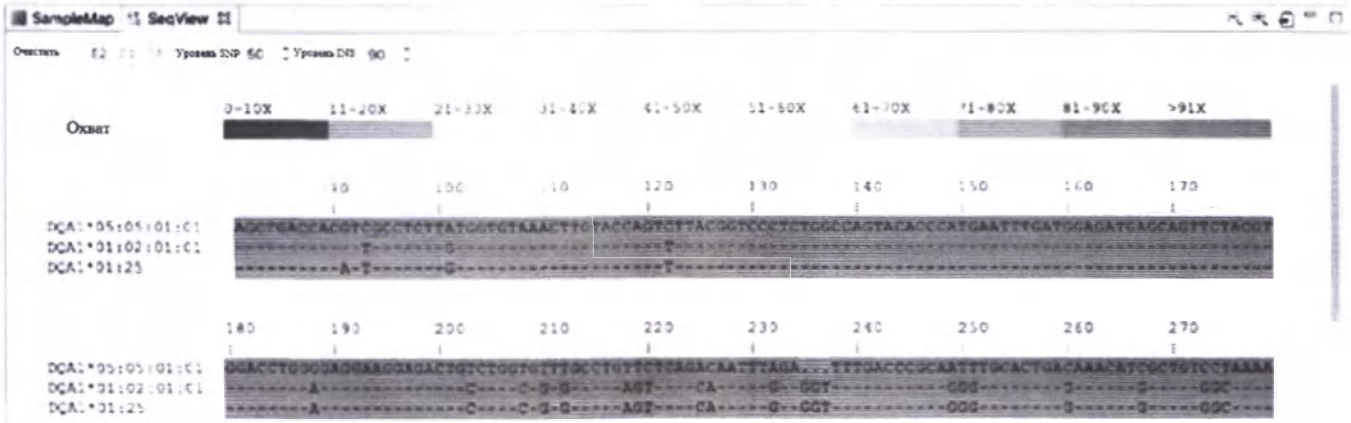
1. Нажмите , чтобы открыть SeqView.
2. Выберите экзон на панели инструментов SeqView.
3. Выберите кандидатов в Таблице охвата.

- **Первый** выбранный кандидат служит основой совмещения для последующих вариантов выбора.
- отображается в таблице охвата, чтобы показать, какая цель была выбрана.
- Нажмите «Очистить» на панели инструментов SeqView, чтобы сбросить представление и

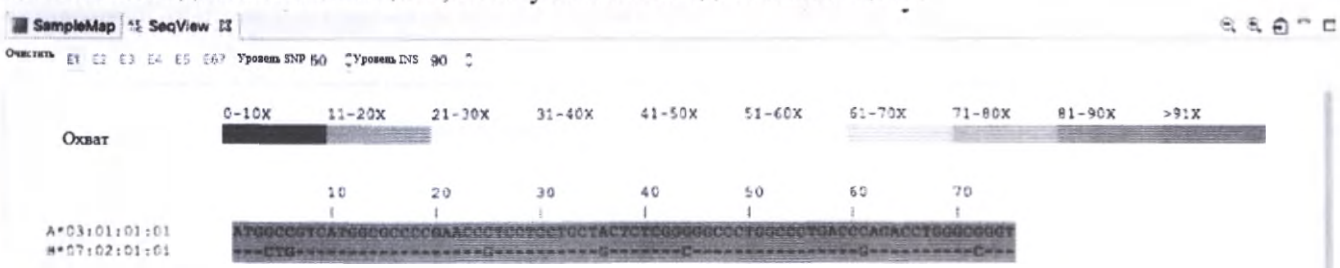
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

отменить выбор всех кандидатов.

- «Уровень SNP» на панели инструментов SeqView представляет процент глубины охвата. Он может быть скорректирован в качестве границы для выборочного отображения SNP, которые присутствуют на уровне, превышающем этот процент от общей глубины охвата.
- Цвет каждой позиции указывает на глубину охвата до 90+.

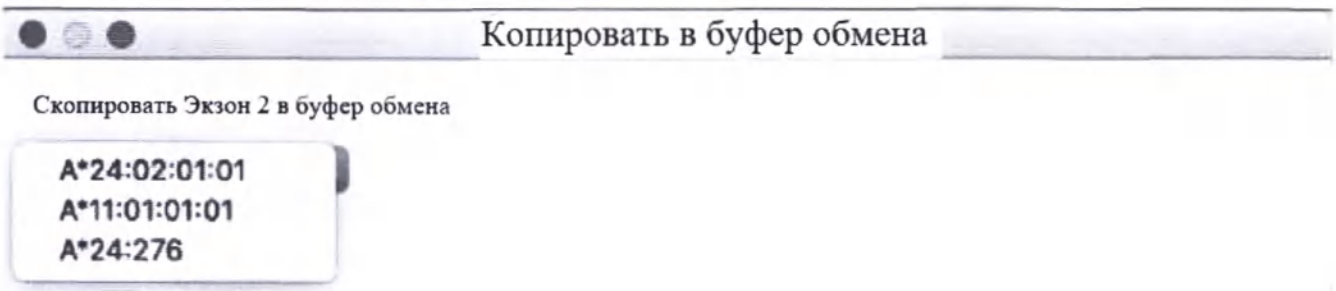


Последовательности из разных локусов могут быть совмещены в описании последовательности, если они из одной и той же цели, и локусы имеют одинаковые цели.



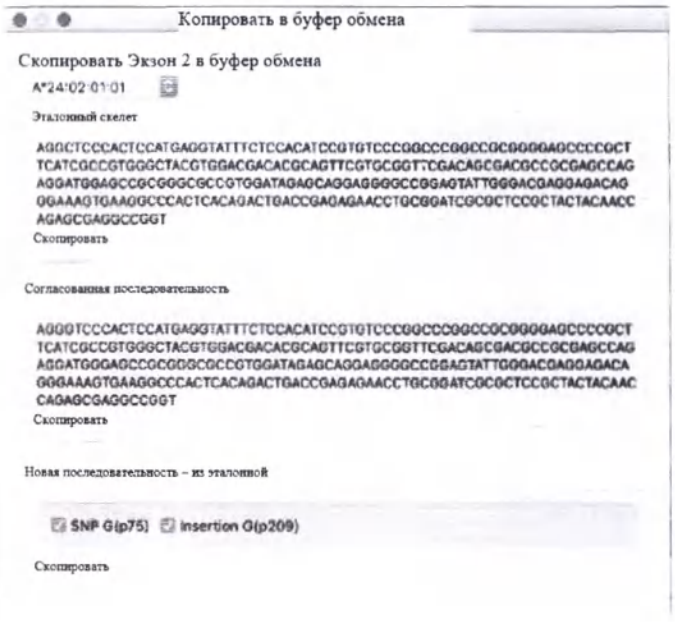
Копирование последовательностей в буфер обмена

Чтобы скопировать последовательность, выберите ее для просмотра в окне просмотра, щелкнув значок в правом верхнем углу SeqView. Все последовательности в представлении SeqView можно будет выбрать для копирования.



Если в SeqView не отображаются SNP или вставки, для копирования будет доступен только эталонный скелет. Если есть видимые SNP и/или вставки, будет возможность скопировать согласованную последовательность, которая включает видимые вставки и базу в каждой позиции с наибольшей глубиной. Существует также возможность выбрать, какие видимые SNP и вставки включать в последовательность для копирования.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

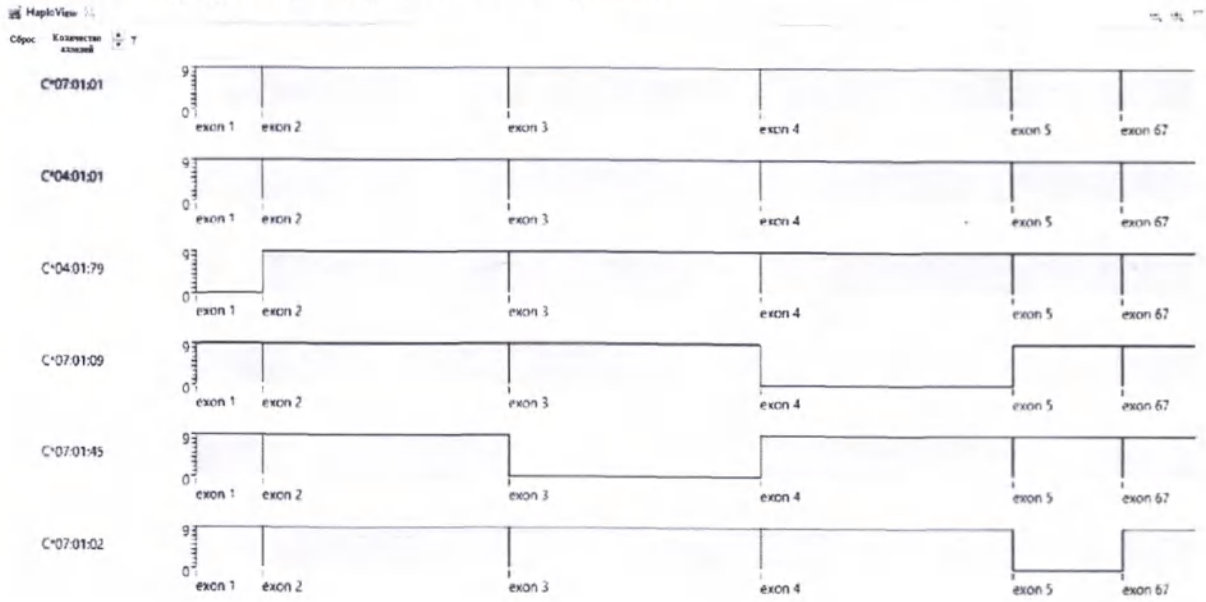


9.11. HaploView.

Просмотр аллелей-кандидатов во всех экзонах в качестве наглядного пособия для оценки назначений аллелей и оказания помощи в обнаружении рекомбинантных продуктов.

1. Нажмите , чтобы открыть HaploView.
2. Выберите на панели строку «Сводка».

- Цветовое кодирование экзонов в HaploView соответствует ячейкам в таблице охвата.
- Порядок размещения сверху вниз соответствует кандидатам в таблице охвата.
- Ось у каждого графика указывает глубину охвата до 90+.
- Отрегулируйте «Количество аллелей» на панели инструментов HaploView, чтобы изменить количество графиков, отображаемых в HaploView.



ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

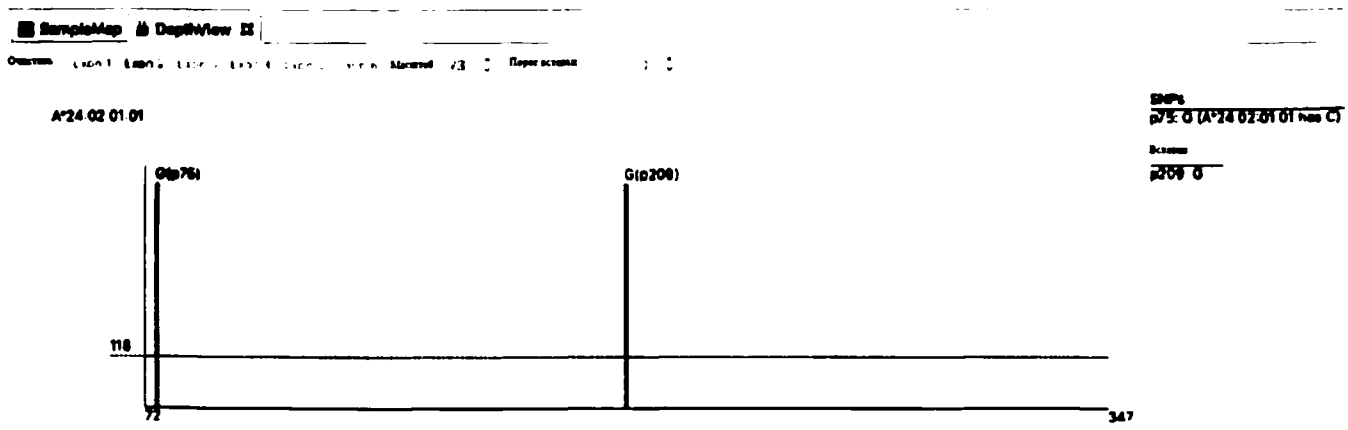
9.12. DepthView.

Просмотрите графики глубины охвата, чтобы оценить глубину охвата в каждой позиции и несоответствия.

1. Нажмите , чтобы открыть DepthView.
2. Выберите экзон на панели инструментов DepthView.
3. Выберите кандидата в таблице охвата.

- Для каждого кандидата DepthView отображает график глубины охвата в каждой позиции.
- Отрегулируйте «Масштаб», чтобы установить процент от общего числа считываний в качестве ограничения, и найдите SNP, которые присутствуют выше этого процента глубины. По умолчанию эта шкала установлена на уровне 50 %.
- Отрегулируйте «Порог вставки» для обнаружения вставок. Пороговое значение по умолчанию равно 90 %, и это средняя глубина вставки в процентах по сравнению с фланговыми базами.

Найденные позиции SNP, вставки и варианты их последовательности перечислены в правой части графика.



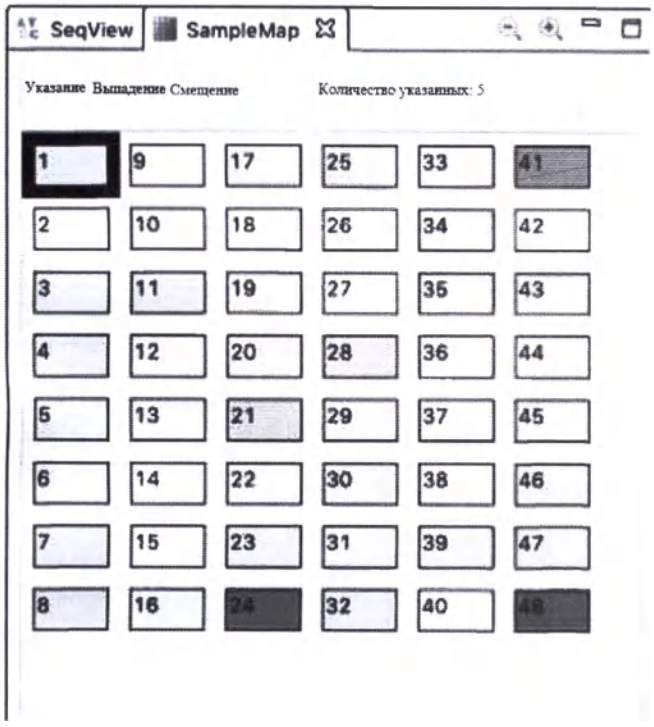
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

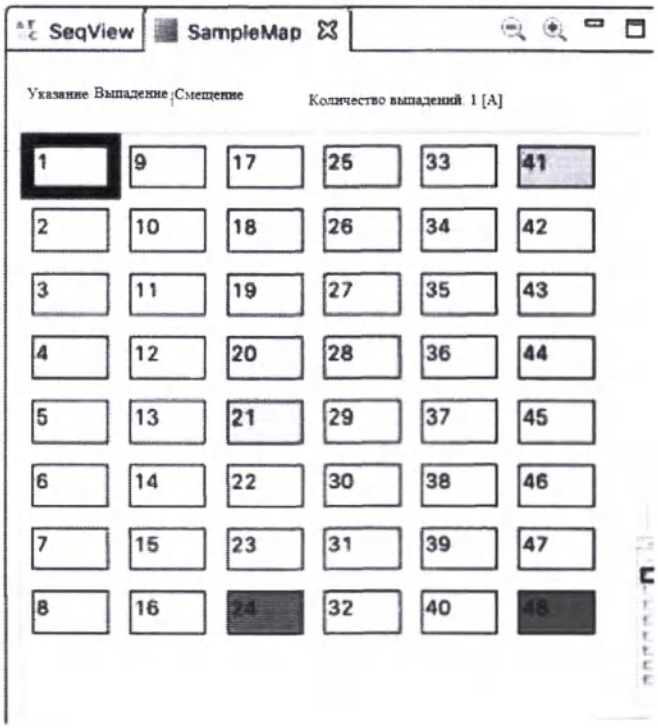
9.13. Описание карты образцов.

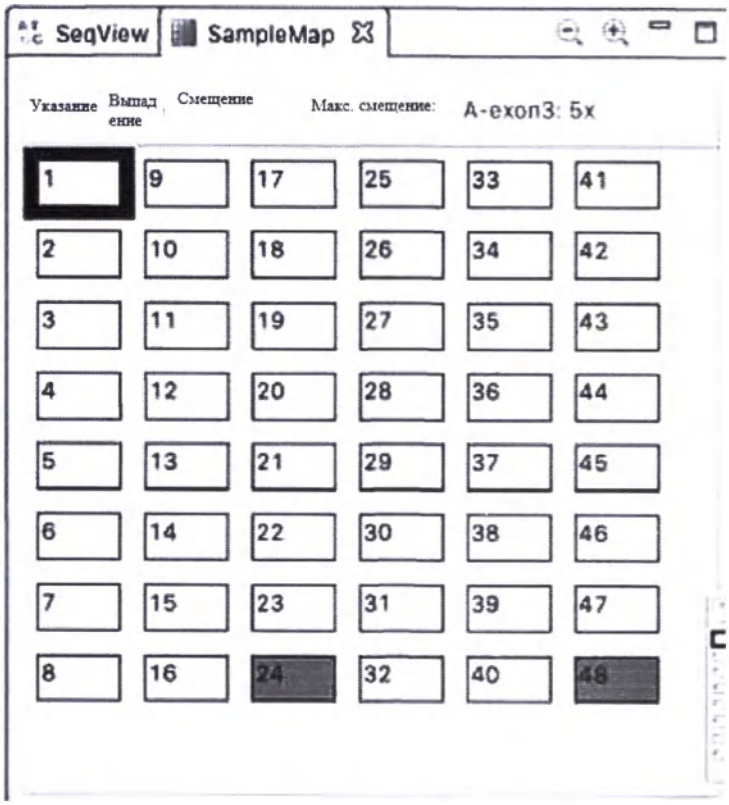
Вид макета планшета для образцов с указанием флажков, выпадения и смещения аллелей.

Описание карты образцов (щелкните , чтобы открыть) предоставляет цветовое представление различных результатов выборки в виде макета планшета, т.е. 8 строк по 12 столбцов.

Позиции, выделенные серым цветом, указывают на позиции образцов, в которых нет результатов типирования.







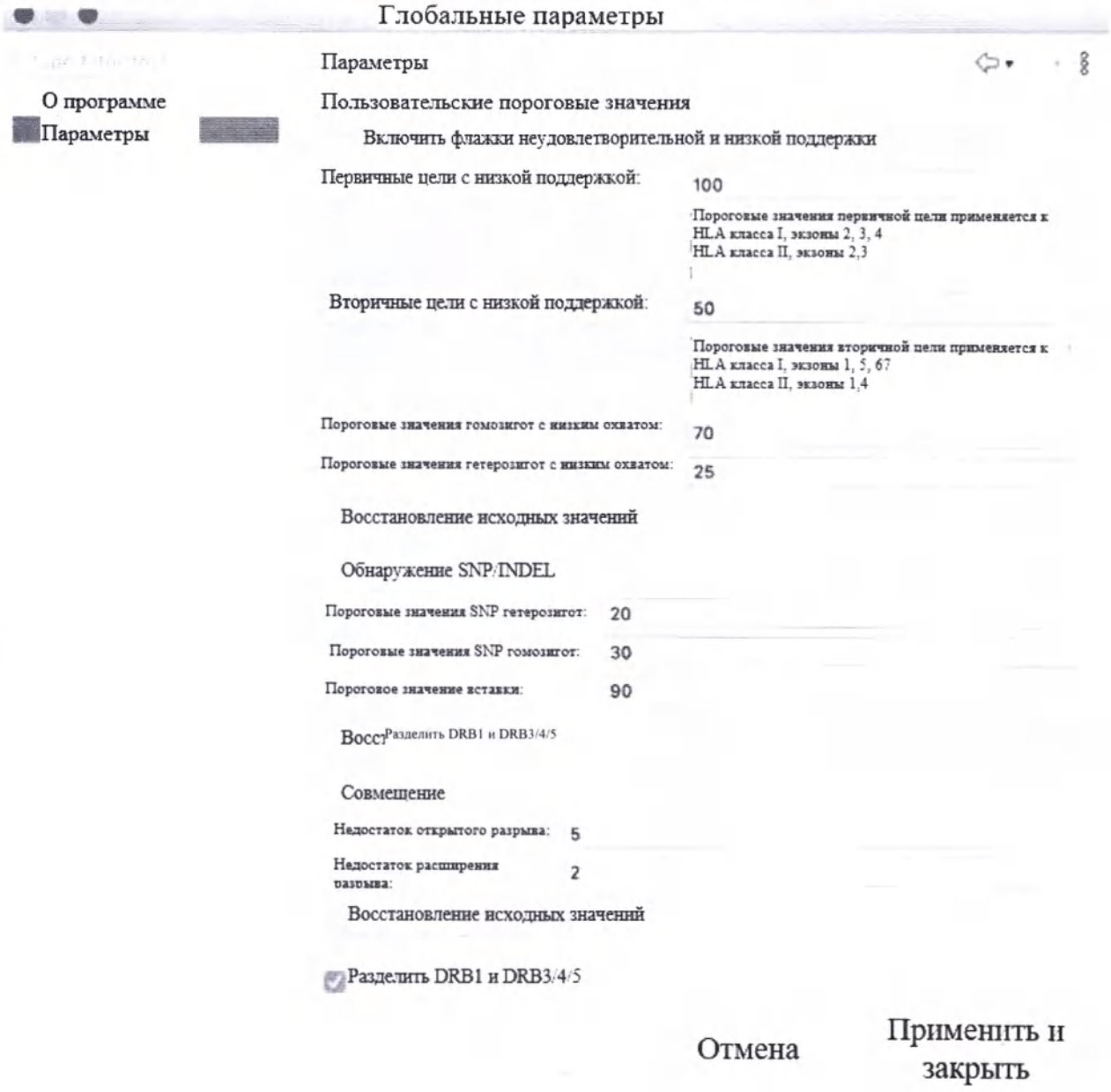
ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

При выборе образца на панели инструментов отображаются следующие показатели:

- Количество флажков: общее количество флажков для всех результатов гена для этого образца
- Количество отброшенных целей: общее количество отброшенных целей по всем выбранным кандидатам для этого образца.
- Смещение: Максимальное смещение, обнаруженное среди всех результатов определения генов-мишеней для этого образца.

9.14. Глобальные параметры.

Диалоговое окно «Глобальные параметры» можно использовать для изменения пороговых значений для обнаружения SNP, недостатков совмещения и способа отображения генов DRB в таблице охвата. Эти настройки сохраняются между сеансами, кнопки «Восстановить значения по умолчанию» можно использовать для восстановления исходных значений.



ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Пользовательские пороговые значения

Здесь собраны Глобальные параметры, которые управляют флажками. Если выбран параметр «Включить флажки неудовлетворительной и низкой поддержки», это добавит два дополнительных флажка к образцам. Пороговые значения для флажка «Пары с низкой поддержкой» контролируются полями «Первичные цели с низкой поддержкой» и «Вторичные цели с низкой поддержкой». Поля «Гомозиготы и гетерозиготы с низким охватом» контролируют пороговые значения для флажков «Низкое количество гомозигот» и «Низкий охват».

Обнаружение SNP/INDEL

Существуют Глобальные параметры для пороговых значений SNP гетерозигот и гомозигот. Эти настройки повлияют на то, какие целевые последовательности будут помечены флагом «Известный артефакт последовательности» или «Несоответствующая(-ие) позиция(-ии)». Пороговое значение вставки определяет, когда появится флажок «Обнаружена вставка». Средняя глубина вставки сравнивается с фланговыми базами.

Совмещение

Существуют Глобальные параметры для Недостатка открытого разрыва и Недостатка расширения разрыва. Эти недостатки используются в качестве параметров для инструмента совмещения нескольких последовательностей, используемого в представлении последовательности

DRB

По умолчанию кандидаты DRB1 и DRB3/4/5 показаны вместе в таблице охвата. Можно разделить этих кандидатов, установив флажок «Отделить DRB1 и DRB3/4/5» в диалоговом окне глобальных параметров.

9.15. Обнаружение нулевого аллеля.

Нулевые аллели и другие варианты экспрессии, идентифицированные уникальными интронными последовательностями, сообщаются в GEMS-UI.

Следующие выбранные варианты экспрессии определяются автоматически:

Аллель	Область обнаружения
A*01:01:01:02N	Интрон 2
A*03:01:01:02N	Интрон 4
A*24:02:01:02L	Интрон 2
A*26:01:01:03N	Интрон 4
A*29:01:01:02N	Интрон 1
A*31:01:02:03N	Интрон 1
B*15:01:01:02N	Интрон 1
B*44:02:01:02S	Интрон 4
C*15:02:01:08N	Интрон 2
DPB1*04:01:01:24N	Интрон 2

Дополнительное примечание: Все нулевые аллели, кодируемые сайтом сращивания (например, DRB4*01:03:01:02N), типизируются как 8-значные кандидаты, поскольку их идентифицирующие последовательности (сайт сращивания донора или акцептора) включены в магистраль нормального выравнивания.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

9.16. Распространенные ошибки последовательности MiSeq.

Последовательность MiSeq подвержена определенным типам систематических ошибок, возникающих либо из-за неудачных базовых вызовов (связанных с низким показателем Q), либо из-за неправильного включения базы. В частности, в химии Illumina Version 2 Chemistry существует несколько распространенных ошибочных базовых вызовов, как указано в таблице ниже.

Ген	Экзон	Позиция в экзоне (начиная с 1)	Позиция IMGT	Замена
A	5	49	935	T - G
B	2	18	91	T - G
B	2	104	178	T - G
B	3	167	511	T - G
B	3	203	547	T - C
B	5	14	910	T - C
B	5	17	913	A - C
B	5	73	969	C - G
C	3	65	409	T - G
C	3	148	492	T - C
C	3	159	503	A - C

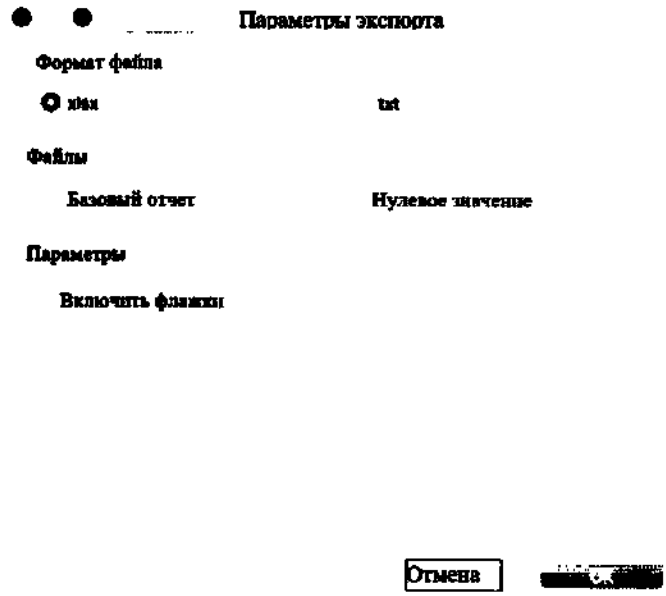
9.17. Создание отчета.

Внимание пользователям MacOS: по умолчанию Gems-UI будет иметь доступ только к написанию отчетов на вашем компьютере. Если вы попытаетесь сохранить отчет в любое другое место, приложение зависнет. Чтобы предотвратить это, вы должны:

Открыть Системные настройки ->Безопасность и конфиденциальность -> Полный доступ к диску и разрешить GeMS-UI полный доступ к диску.

Экспорт отчета

1. Выберите все образцы для отчета в «Навигаторе по образцам».
2. Нажмите , чтобы создать отчет.
3. Выберите расширение файла и параметры отчета.



ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

10. Сведения о процедуре инсталляции и деинсталляции программного обеспечения.
Инсталляция и деинсталляция программного обеспечения осуществляется пользователем.
При возникновении ошибок или сбоев, связанных с инсталляцией, работой или деинсталляцией программного обеспечения необходимо немедленно обратиться к сертифицированному представителю ООО «МедТех» или в службу технической поддержки.

11. Сведения о порядке осуществления технического сопровождения и поддержки программного обеспечения.
Настройка, внесение изменений и обновление Программного обеспечения выполняются только персоналом, уполномоченным компанией ООО «МедТех» (лично или путем удаленного доступа). Привлечение к обслуживанию программного обеспечения неуполномоченного персонала аннулирует любые гарантии, распространяющиеся на данное ПО.

По вопросам технической поддержки обращаться в ООО «МедТех»:
Адрес: 108814, г. Москва, километр Калужское шоссе 24-й (п. Сосенское), владение 1, строение 1, помещение XIV/эт. 7/ком. 43.
Телефон: +7 (495) 101-62-12
E-mail: info@medtehltd.com

12. Описание медицинских изделий, предусмотренных для использования в комбинации с программным обеспечением.
- Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики, производства ООО «МедТех», Россия.
- Генетический секвенатор MiSeq, производства "Иллюмина, Инк.", США, РУ № РЗН 2014/1568 от 29.04.2014.

13. Маркировка.
Не применимо. Программное обеспечение GeMS UI является скачиваемым.

14. Перечень стандартов, применяемых производителем программного обеспечения.
ГОСТ Р МЭК 62304-2013 «Изделия медицинские. Программное обеспечение. Процессы жизненного цикла»;
ГОСТ Р ИСО/МЭК 12119-2000 «Информационная технология. Пакеты программ. Требования к качеству и тестирование»;
ГОСТ Р ИСО/МЭК 9126-93 «Информационная технология. Оценка программной продукции. Характеристики качества и руководства по их применению»;
ГОСТ 28195-89 «Оценка качества программных средств. Общие положения».
ГОСТ Р 51188-98 «Защита информации. Испытания программных средств на наличие компьютерных вирусов. Типовое руководство.»

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

15. Меры предосторожности.

Программное обеспечение должно использоваться исключительно в клинической деятельности для просмотра, редактирования и валидации аннотированных результатов типирования HLA, полученных с помощью «Набор реагентов для типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирования) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) для in vitro диагностики», полученных при проведении типирования генов главного комплекса гистосовместимости (HLA-генотипирвания) геномной ДНК человека методом секвенирования нового поколения (NGS) на платформе Illumina® MiSeq™ (для секвенирования экзонов с 1 по 7/8 для HLA класса I; экзонов с 1 по 4/5 для DPA1 и DPB1; и экзонов с 1 по 4/6 экзона для DQA1, DQB1 и DRB1/3/4/5).

Программное обеспечение должно использоваться профессиональными пользователями. Просмотр, редактирование и валидацию с использованием Программного обеспечения могут выполнять специалисты с высшим медицинским и биологическим образованием, допущенные к выполнению трудовых функций третьей и четвертой категории сложности согласно «Профессиональному стандарту специалиста клинической лабораторной диагностики»: врач клинической лабораторной диагностики, биолог, лабораторный генетик.

Пользователи Программного обеспечения должны иметь опыт работы с персональным компьютером на базе операционных систем Microsoft Windows 7 и выше на уровне квалифицированного пользователя.

Пользователь должен пройти предварительный инструктаж по работе с Программным обеспечением GeMS UI, проводимый сертифицированным представителем производителя.

Пользователь должен использовать Программное обеспечение в строгом соответствии с рекомендациями настоящего Руководства по эксплуатации.

16. Риски применения медицинского изделия.

Риски, связанные с применением (использованием) Программного обеспечения, были установлены, проанализированы и оценены.

Класс безопасности программного обеспечения, в соответствии с ГОСТ Р МЭК 62304-2013, определен как класс «А» (Невозможны никакие травмы или ущерб здоровью).

17. Информация о мерах и средствах защиты от несанкционированного доступа к программному обеспечению.

Защита от несанкционированного доступа осуществляется методом аутентификации с использованием лицензионного ключа. Дополнительных ключей не предусмотрено.

Программное обеспечение не позволяет копировать установленные файлы GeMS UI на другие компьютеры.

18. Утилизация.

Программное обеспечение подлежит удалению с компьютера, на котором оно было установлено, стандартным методом, предусмотренным установленной операционной системой. При возникновении ошибок или сбоев, связанных с деинсталляцией программного обеспечения

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

необходимо немедленно обратиться к сертифицированному представителю производителя или в службу технической поддержки.

19.Требования к транспортированию и хранению.

Не применимо. Программное обеспечение GeMS UI является скачиваемым и не имеет физических носителей, подлежащих транспортированию и хранению.

20. Гарантии производителя.

Компания ООО «МедТех» принимает на себя гарантийные обязательства перед конечным пользователем в отношении медицинского изделия по отсутствию дефектов и соответствия заявленным производителем характеристикам в течение 12 месяцев со дня продажи, при соблюдении условий, указанных в руководстве по эксплуатации.

Настройка, внесение изменений и обновление ПО выполняются только персоналом, уполномоченным компанией ООО «МедТех». Привлечение к обслуживанию программного обеспечения неуполномоченного персонала аннулирует любые гарантии, распространяющиеся на данное ПО.

21. Рекламации.

По всем вопросам, касающимся эксплуатации, качества изделия и др., на территории Российской Федерации следует обращаться:

Общество с ограниченной ответственностью «МедТех»

Адрес: 108814, г. Москва, километр Калужское шоссе 24-й (п. Сосенское), владение 1, строение 1, помещение XIV/эт. 7/ком. 43.

Телефон: +7 (495) 101-62-12

E-mail: info@medtehltd.com

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Общество с ограниченной ответственностью
"МедТех"
ИНН 7705563046
ОГРН 1147746140035
Москва

Всего прошито и скреплено
печатью 30 лист(ов)

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU