

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор
ООО «ОНКОАТЛАС»
В.А. Милейко
2024 г.

«19» 04

Общество с ограниченной ответственностью
Онкодиагностика
Атлас
Москва

115476059401

ИНСТРУКЦИЯ

по применению

медицинского изделия для диагностики in vitro

«Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс)
по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023»



ООО «ОНКОАТЛАС»,

119049, г.Москва, вн.тер.г. Муниципальный Округ
Якиманка, пр-кт Ленинский, д. 4, стр. 1А, помещ.
2/2

IVD

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОПИСАНИЕ

Медицинское изделие Набор реагентов «HELICON® ABC Плюс» (далее - набор) предназначено для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, в образцах ДНК человека, выделенной из операционного или биопсийного материала, фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE-блоки), плазмы крови, а также из цельной крови, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации методом высокопроизводительного секвенирования. Набор предназначен для использования совместно с генетическим секвенатором «Секвенатор генетический HELICON®» (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023) производства ООО "Ухань ЭмДжиАй Тех Ко., Лтд."

Требования к эксплуатации набора

Применение набора реагентов по назначению возможно только при наличии доступа к сети интернет со скоростью загрузки не менее 1 Mbps и скоростью отдачи не менее 10 Mbps (для функционирования программного обеспечения «Solo AVES» <https://aves.oncoatlaser.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023 (далее - ПО «Solo AVES»)).

Анализ полученных на секвенаторе данных осуществляется с помощью далее ПО «Solo AVES», производства ООО «ОНКОАТЛАС», входящего в состав Набора. Для входа в систему необходимо перейти по ссылке <https://aves.oncoatlaser.ru/> и выполнить вход по паре логин/пароль, которая предоставляется ООО «ОНКОАТЛАС». Для верификации полученной пары логин/пароль следует перейти по ссылке <https://aves.oncoatlaser.ru/>. При переходе открывается стартовая страница авторизации в личном кабинете пользователя, где необходимо ввести логин и пароль в соответствующих полях, затем нажать кнопку «Войти». При корректной авторизации осуществляется переход в личный кабинет пользователя. Необходимо убедиться, что на главной странице личного кабинета есть кнопка «Запустить анализ данных» и вкладки «Образцы», «Анализ данных». В случае отсутствия данных элементов следует обновить страницу нажатием комбинации клавиш Ctrl+F5. При неудачной попытке необходимо связаться с производителем набора реагентов по электронной почте it-solo@oncoatlaser.ru.

При анализе библиотек ДНК, приготовленных с помощью набора из ДНК, выделенной из цельной крови и плазмы крови, а также из операционного или биопсийного материала, фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE блоки), рекомендованная глубина покрытия составляет не менее 5000х.

Важно! При возникновении технических сбоев в работе компьютера или сети Интернет рекомендуется обратиться к ПО «Solo AVES» после устранения неполадок со стороны пользователя или провайдера либо осуществить доступ к ПО «Solo AVES» с другого компьютера, подключенного к другой сети, соответствующей требованиям, предъявляемым к сети Интернет для корректной работы ПО «Solo AVES». Потеря доступа к сети Интернет никак не влияет на качество получаемого отчета, если предприняты рекомендованные меры.

Перечень участков целевых регионов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, исследуемых набором, приведен в Таблице 1.

Таблица 1

Участки генома человека, определяемые методом NGS совместно с медицинским изделием

Ген	Диапазон координат ампликона
BRCA1	chr 17: 41197695-41276113
CHEK2	chr 22: 29091115- 29130500
PALB2	chr 16: 23614780- 23652478
ATM	chr 11: 108098352- 108236235

BRCA2	chr 13: 32890598-32972907
PIK3CA	chr 3: 178916799-178952122

Производителем (изготовителем) медицинского изделия является Общество с ограниченной ответственностью «Онкодиагностика АТЛАС» (ООО «ОНКОАТЛАС»), 119049, г.Москва, вн.тер.г. Муниципальный Округ Якиманка, пр-кт Ленинский, д. 4, стр. 1А, помещ. 2/2.

Показанием к применению набора является проведение целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК для дальнейшего одновременного выявления носительства (отсутствия носительства) генетических вариантов в целевых регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации.

Противопоказания - отсутствуют.

Область применения набора - клиническая лабораторная диагностика, лабораторная генетика, онкология.

Потенциальными потребителями набора являются лаборатории молекулярной диагностики или патоморфологические лаборатории, выполняющие анализ предиктивных генетических биомаркеров при онкологических заболеваниях.

Набор предназначен только для профессионального применения. Исследования с использованием набора реагентов могут выполнять специалисты с высшим медицинским, биологическим или биотехнологическим образованием: биолог, молекулярный биолог, биотехнолог, инженер-технолог, медицинский лабораторный техник, лаборант, врач клинической лабораторной диагностики.

Персонал, проводящий исследования с использованием набора, должен владеть навыками проведения молекулярно-биологических исследований и работы на генетических секвенаторах.

Тип анализируемого образца – материалом для использования набора реагентов служат:

- образцы опухолевой ДНК, выделенные из операционного (биопсийного) материала пациента, фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE-блоки),
- образцы геномной ДНК, выделенные из цельной крови,
- образцы свободно циркулирующей ДНК, выделенной из плазмы крови пациента (“жидкостная биопсия”).

Функциональное назначение состоит в проведении целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением носительства (отсутствия носительства) генетических вариантов в целевых регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации в соответствии с клиническими рекомендациями Минздрава РФ, инструкциями к лекарственным препаратам и данными научных исследований.

Специфическая патология, состояние или фактор риска, для обнаружения, определения или дифференцирования которого предназначено медицинское изделие для диагностики in vitro – при раке молочной железы, раке яичников, раке предстательной железы, раке поджелудочной железы и опухолях невыявленной первичной локализации одновременное выявление генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM,

CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, для выбора дальнейшей стратегии лечения.

ВАЖНО! Выбор дальнейшей стратегии лечения на основании результатов, полученных набором реагентов, должен определяться только лечащим врачом!

Принцип метода.

Секвенирование нового поколения (NGS) - техника определения нуклеотидной последовательности ДНК, которая позволяет «прочитать» одновременно сразу несколько участков генома человека. ДНК, выделенная из биоматериала пациента, используется для наработки целевых последовательностей в виде продуктов мультиплексной ПЦР. Далее, к продуктам ПЦР присоединяют (лигируют) олигонуклеотидные адаптеры с уникальными индексными последовательностями (баркодами) для определения индивидуальных образцов в данных секвенирования при одновременном анализе методом секвенирования на приборе «Секвенатор генетический HELICON®» (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023) производства ООО "Ухань ЭмДжиАй Тех Ко., Лтд.". Полученные результаты секвенирования в виде списка генетических вариантов, отличающихся от референсной (нормальной) последовательности генома человека, сравнивают с перечнем известных генетических вариантов: при обнаружении таких вариантов из списка результат тестирования считается положительным - пациент является носителем генетического варианта. Учитывая технологические особенности метода NGS, чувствительность детектирования генетического варианта зависит не от его расположения внутри целевой последовательности, а от количества отдельных прочтений коротких молекул ДНК, которые могут подтверждать или опровергать наличие/отсутствие этого варианта в образце. Таким образом, определение наличия/отсутствия генетического варианта внутри целевой последовательности возможно в случае, если суммарный набор прочтений коротких молекул ДНК, полученных в рамках эксперимента, позволяет с высокой достоверностью проводить анализ каждой позиции целевого региона. Иначе говоря, если каждое отклонение от референсной последовательности, может быть дополнительно валидировано или опровергнуто достаточным количеством прочтений этого региона, а также, каждое соответствие референсной последовательности может быть достоверно подтверждено или опровергнуто прочтениями этого региона. В соответствии с этим, все позиции внутри целевых регионов, а также всевозможные генетические варианты, которые располагаются внутри целевых регионов являются эквивалентными. Характеристиками, свидетельствующими о такой возможности, могут выступать - средняя глубина прочтения целевого региона, равномерность покрытия целевого региона (униформность), а также более комплексные интегральные характеристики, рассчитанные в соответствии с математическими моделями, учитывающими расположение и качество каждого отдельного прочтения, полученного в рамках эксперимента, в том числе интегральная чувствительность детектирования рекуррентных генетических вариантов.

Принцип действия набора

Принцип работы набора проиллюстрирован на рисунке 1:

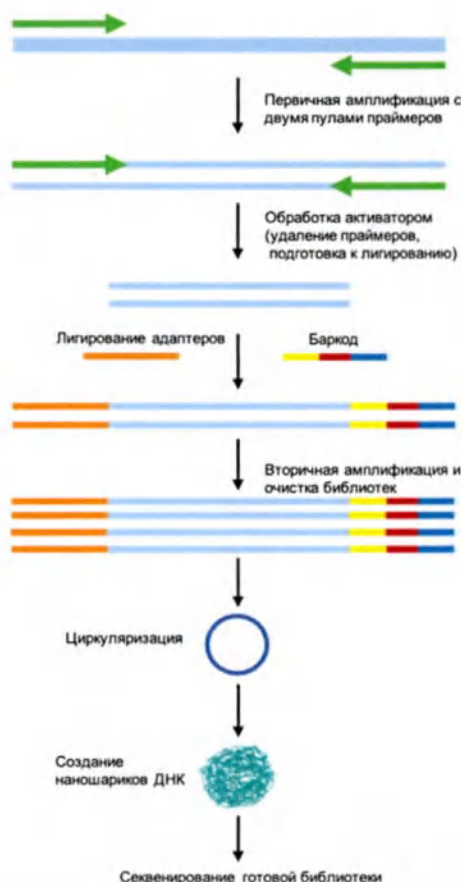


Рисунок 1. Принцип работы набора

Первый этап: ДНК, выделенная из биоматериала пациента, используется для наработки целевых фрагментов в виде продуктов мультиплексной ПЦР.

Второй этап: Удаление праймеров с концевых участков ПЦР продуктов и лигирование к ним олигонуклеотидных адаптеров с уникальными индексными последовательностями (баркодами), необходимых для последующего секвенирования библиотеки, и позволяющими атрибутировать каждую полученную нуклеотидную последовательность исходному образцу ДНК после секвенирования. Очистка библиотек на магнитных частицах.

Третий этап: Амплификация и очистка библиотек. Позволяет наработать необходимое количество библиотеки.

Четвертый этап: Циркуляризация библиотек. К пулу библиотек ДНК вводится олигонуклеотид, комплементарный участкам уникальных адаптеров, и лигаза. Добавление такого олигонуклеотида делает возможным циркуляризацию исходных фрагментов ДНК. Последующая обработка библиотек расщепляющим ферментом очищает библиотеки от остатков линейных библиотек.

Пятый этап: Подготовка ДНК-наношариков и секвенирование. Во время подготовки образцов к секвенированию олигонуклеотид служит затравкой при амплификации по типу катящегося кольца – амплификации с множественным вытеснением цепи (Rolling Circle amplification, RCA). Амплификацию проводят до тех пор, пока количество копий исходной матрицы не достигнет 300-500. Благодаря структуре олигонуклеотидов и адаптеров длинная цепь ДНК укладывается в компактную структуру, так называемый наношарик (DNA nanoball, DNB). Полученную библиотеку фрагментов ДНК в виде наношариков наносят на специальную проточную ячейку. Проточная ячейка несет заряженные участки, к которым за счет электростатических сил присоединяются наношарики. Расстояние между заряженными участками рассчитаны таким образом, что к каждому участку присоединяется один наношарик.

Во время секвенирования (на секвенаторе «Секвенатор генетический HELICON®» (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023) производства ООО "Ухань ЭмДжиАй Тех Ко., Лтд.") к наношарику добавляется праймер для секвенирования (Apcor — якорная последовательность, якорь). Он присоединяется к адаптерной последовательности ДНК-наношарика. Далее в реакцию добавляется 4 вида нуклеотидов, каждый из которых мечен индивидуальным флуоресцентным красителем. Нуклеотид присоединяется комплементарно к синтезируемой последовательности ДНК. После его присоединения лишние неспецифичные нуклеотиды удаляются из реакции. Флуоресцентная метка на присоединившемся нуклеотиде возбуждается лазером и сигнал детектируется CCD-камерой. После детекции флуоресцентная метка отщепляется, и проточная ячейка промывается. При повторении циклов присоединения нуклеотида и детекции сигнала происходит секвенирование исходной цепи ДНК.

Анализ полученных на секвенаторе данных осуществляется с помощью ПО "Solo AVES" производства ООО "ОНКОАТЛАС", входящего в состав Набора. ПО "Solo AVES" одновременно анализирует генетические варианты всех целевых регионов.

Класс потенциального риска применения ПО "Solo AVES" – 26.

Класс безопасности ПО "Solo AVES" – А.

В Наборе имеются три комплекта, необходимые для проведения первых четырех этапов, а для проведения подготовки к секвенированию и секвенирования используются следующие наборы реагентов:

1. «Набор реагентов MGI G50 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» (РЗН 2023/21588 от 28.11.2023). Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»: Набор реагентов G50 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G50 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G50 SM FCS PE100 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G50 SM FCS PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

2. «Набор реагентов MGI G400 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» (РЗН 2023/21587 от 29.11.2023). Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»: Набор реагентов G400 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G400 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

Научная обоснованность определяемых мутаций.

При разработке набора HELICON® ABC Плюс первоочередной целью являлась сопутствующая диагностика группы из пяти заболеваний (рак молочной железы, рак предстательной железы, рак поджелудочной железы, рак яичников, опухоли невыявленной первичной локализации), основанная на исследовании генетических вариантов, наличие которых ассоциировано с эффективностью таргетной терапии и наследственными опухолевыми синдромами в соответствии с терапевтическими показаниями зарегистрированных лекарственных препаратов для применения в Российской Федерации и/или отечественными рекомендациями по ведению онкологических больных (Таблица 2).

В соответствии с предназначением тест-системы для определения её состава были проанализированы инструкции по применению лекарственных средств для лечения указанных заболеваний, а также отечественные и зарубежные рекомендации (включая: AOP, RUSSCO, NCCN, ESMO, ASCO) по ведению онкологических больных с целью определения спектра генетических вариантов, выявление которых необходимо для определения терапевтической стратегии лечения больных указанными заболеваниями. Тест-система предназначена для использования в рамках рутинной практики ведения онкологических больных.

Таблица 2

Клиническая значимость одновременного определения генетических вариантов в целевых регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA

	Перечень нозологий, при наличии которых необходимо определение статуса носительства генетических вариантов в целевых регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA				
Перечень генов, нахождение генетических вариантов в целевых регионах которых связано с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами	Рак молочной железы	Рак предстательной железы	Рак яичников	Рак поджелудочной железы	Опухоли невыявленной первичной локализации
BRCA1	Назначение олапариба и талазопариба* [1] Диагностика НОС** [1, 6] Диагностика и профилактика НОС*** [1]	Назначение олапариба* [2] Диагностика НОС [2, 7]	Назначение олапариба и платиносодержащей химиотерапии [3] Диагностика НОС [3, 8]	Назначение: олапариба*; FOLFIRINOX*; гемцитабина в комбинации с платиносодержащей химиотерапией* [4] Диагностика НОС [4, 9]	Определение чувствительности опухоли к платиносодержащей химиотерапии и к ингибиторам PARP [5]

BRCA2	Назначение олапариба и талазопариба* [1] Диагностика НОС [1, 5] Диагностика и профилактика* ** [1]	Назначение олапариба* [2] Диагностика НОС [2, 7]	Назначение олапариба и платиносодержащей химиотерапии [3] Диагностика НОС [3, 8]	Назначение: олапариба*; FOLFIRINOX*; гемцитабина в комбинации с платиносодержащей химиотерапии* [4] Диагностика НОС [4, 9]	Определение чувствительности опухоли к платиносодержащей химиотерапии и к ингибиторам PARP [5]
PALB2	Диагностика НОС [6];	Назначение олапариба* [2] Диагностика НОС [7]	Диагностика НОС [8]	Назначение: FOLFIRINOX*; гемцитабина в комбинации с платиносодержащей химиотерапии* [4] Диагностика НОС [4, 9]	-
ATM	Диагностика НОС [6];	Назначение олапариба* [2] Диагностика Н ОС [2, 7]	Диагностика НОС [8]	Диагностика НОС [9]	-
CHEK2	Диагностика НОС [1, 6]	Назначение олапариба* [2] Диагностика НОС [7]	Диагностика НОС [8]	Диагностика НОС [9]	-
PIK3CA	Назначение алпелисиба в комбинации с фулвестрантом [1]	-	-	-	-

* Рекомендовано использование NGS в качестве метода исследования генов для назначения препарата.

** НОС - наследственный опухолевый синдром

*** Согласно клиническим рекомендациями МЗ РФ для рака молочной железы [1]:

– “показания к выполнению МРТ молочных желез для оценки местного распространения РМЖ ... наличие мутаций в генах BRCA1, BRCA2;”

- “профилактическая мастэктомия с одномоментной реконструкцией и профилактическая тубовариэктомия”
- 1. Клинические рекомендации МЗ РФ. Рак молочной железы. https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/379_4
- 2. Клинические рекомендации МЗ РФ. Рак предстательной железы. https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/12_3
- 3. Клинические рекомендации МЗ РФ. Рак яичников. https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/547_2
- 4. Клинические рекомендации МЗ РФ. Рак поджелудочной железы. https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/355_4
- 5. Клинические рекомендации МЗ РФ. Опухоли невыявленной первичной локализации. https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/504_2
- 6. Портной С.М. Основные риски развития рака молочной железы и предложения по его профилактике. Опухоли женской репродуктивной системы. 2018;14(3):25-39. <https://doi.org/10.17650/1994-4098-2018-14-3-25-39>
- 7. Маилян О.А., Калпинский А.С., Решетов И.В., Нюшко К.М., Алексеев Б.Я., Кокин С.П., Стаканов В.А., Головащенко М.П. Клиническое значение мутаций в генах репарации ДНК у больных метастатическим раком предстательной железы. Онкоурология. 2021;17(1):82-88. <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2021-17-1-82-88>
- 8. Любченко Л.Н., Батенева Е.И., Абрамов И.С., Емельянова М.А., Будик Ю.А., Тюляндина А.С., Крохина О.В., Воротников И.К., Соболевский В.А., Наседкина Т.В., Портной С.М. Наследственный рак молочной железы и яичников. Злокачественные опухоли. 2013;(2):53-61. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2013-2-53-61>
- 9. Меньшиков К.В., Султанбаев А.В., Мусин Ш.И., Измайлов А.А., Меньшиков И.А., Султанбаева Н.И., Попова Е.В., Хамматова Л.А. Перспективы PARP-ингибиторов при лечении BRCA-ассоциированного рака поджелудочной железы. Обзор литературы. Креативная хирургия и онкология. 2022;12(1):48-55. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2022-12-1-48-55>

2. ХАРАКТЕРИСТИКИ И СОСТАВ НАБОРА

2.1 Состав набора и комплект поставки

В комплект поставки входят:

- Набор реагентов
- Руководство пользователя
- Паспорт.

Полная инструкция по применению предоставляется на бумажном носителе отдельно от медицинского изделия (по запросу пользователя), а также в форме электронного документа, размещенного в сети Интернет по ссылке <https://cdn.oncoatlas.ru/instruction-abc-plus-m.pdf> (согласно требованиям Приказа Министерства здравоохранения Российской Федерации от 19.01.2017 г. № 11н).

Набор выпускается в четырех вариантах исполнения: «HELICON® ABC Плюс А», «HELICON® ABC Плюс Б», «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б», рассчитанных на проведение анализа 48 образцов. Варианты исполнения «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б» включают компоненты для целевого обогащения ДНК, приготовления библиотек и циркуляризации библиотек, а варианты исполнения «HELICON® ABC Плюс А» и «HELICON® ABC Плюс Б» включают компоненты для целевого обогащения ДНК и приготовления библиотек. Варианты исполнения «HELICON® ABC Плюс А» может быть использован совместно с вариантом исполнения «HELICON® ABC Плюс С-Б», а «HELICON® ABC Плюс С-А» совместно с «HELICON® ABC Плюс Б» при необходимости анализа до 96 образцов. Допускается объединять библиотеки ДНК, приготовленные с помощью разных наборов при условии, что в одном цикле секвенирования каждая комбинация уникальных адаптеров будет встречаться только 1 раз. Таким образом, в одном цикле секвенирования может быть объединено до 96 уникальных образцов, включая контроли.

Для проведения полного цикла исследования с помощью наборов в вариантах исполнения «HELICON® ABC Плюс А», «HELICON® ABC Плюс Б» необходимо дополнительно использовать реагенты для циркуляризации библиотек ДНК из наборов в вариантах исполнения «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б», а также наборы реагентов «Набор реагентов MGI G50 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» (РЗН 2023/21588 от 28.11.2023)¹, «Набор реагентов MGI G400 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» (РЗН 2023/21587 от 29.11.2023)² в зависимости от используемого секвенатора. для проведения подготовки к секвенированию и секвенирования. Таким образом, достигается большая гибкость в масштабировании производительности анализа и максимальное удобство пользователя в планировании лабораторных исследований.

Вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс А» включает 2 комплекта реагентов и ПО «Solo AVES»:

1. Комплект для целевого обогащения ДНК;
2. Комплект для приготовления библиотек;
3. ПО «Solo AVES» <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023.

¹ Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»: Набор реагентов G50 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G50 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G50 SM FCS PE100 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G50 SM FCS PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

² Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»: Набор реагентов G400 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G400 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

Вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс Б» включает 2 комплекта реагентов и ПО «Solo AVES»:

1. Комплект для целевого обогащения ДНК;
2. Комплект для приготовления библиотек;
3. ПО «Solo AVES» <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023.

Вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс С-А» включает 3 комплекта реагентов и ПО «Solo AVES»:

1. Комплект для целевого обогащения ДНК;
2. Комплект для приготовления библиотек;
3. Комплект для циркуляризации библиотек;
4. ПО «Solo AVES» <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023.

Вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс С-Б» включает 3 комплекта реагентов и ПО «Solo AVES»:

1. Комплект для целевого обогащения ДНК;
2. Комплект для приготовления библиотек;
3. Комплект для циркуляризации библиотек;
4. ПО «Solo AVES» <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023.

Состав набора «HELICON® ABC Плюс С-А» включает:

1. Комплект для целевого обогащения ДНК

Название	Объем	Количество	Описание
Раствор праймеров 1	240 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов в концентрации 100 нМ/л
Раствор праймеров 2	240 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов в концентрации 100 нМ/л
ПЦР-смесь 1	192 мкл	1 пробирка	Буферный раствор, содержащий ДНК-полимеразу
КО	24 мкл	1 пробирка	Водный раствор ДНК человека в концентрации 5 нг/мкл, содержащий генетический вариант chr17:41209079T>TG

2. Комплект для приготовления библиотек:

Название	Объем	Количество	Описание
Активатор	96 мкл	1 пробирка	Буферный раствор в 50% глицерине, содержащий урацил-ДНК гликозилазу
Раствор Л	192 мкл	1 пробирка	Буферный раствор на основе Tris-HCl
ДНК-лигаза	96 мкл	1 пробирка	Раствор фермента ДНК-лигаза в буферном растворе для хранения

Магнитные частицы	3840 мкл	1 пробирка	Суспензия магнитных частиц в буферном растворе
Реагент В	4500 мкл	1 пробирка	Многокомпонентная смесь на основе высококонцентрированного солевого раствора
Раствор праймеров 3	192 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов
ТЕ буфер	4500 мкл	1 пробирка	Tris-HCl буфер с низким содержанием ЭДТА
ПЦР-смесь 2	2 × 1152 мкл	2 пробирки	Буферный раствор с нуклеозид-трифосфатами и ДНК-полимеразой
Адаптер 1	2 мкл	A1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 2	2 мкл	B1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 3	2 мкл	C1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 4	2 мкл	D1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 13	2 мкл	E1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 14	2 мкл	F1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 15	2 мкл	G1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов

Адаптер 16	2 мкл	H1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 41	2 мкл	A2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 42	2 мкл	B2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 43	2 мкл	C2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 44	2 мкл	D2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 45	2 мкл	E2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 46	2 мкл	F2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 47	2 мкл	G2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 48	2 мкл	H2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 57	2 мкл	A3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных

			олигонуклеотидов
Адаптер 58	2 мкл	B3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 59	2 мкл	C3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 60	2 мкл	D3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 61	2 мкл	E3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 62	2 мкл	F3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 63	2 мкл	G3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 64	2 мкл	H3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 65	2 мкл	A4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 66	2 мкл	B4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 67	2 мкл	C4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных

			олигонуклеотидов
Адаптер 68	2 мкл	D4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 69	2 мкл	E4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 70	2 мкл	F4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 71	2 мкл	G4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 72	2 мкл	H4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 73	2 мкл	A5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 74	2 мкл	B5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 75	2 мкл	C5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 76	2 мкл	D5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 77	2 мкл	E5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных

			олигонуклеотидов
Адаптер 78	2 мкл	F5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 79	2 мкл	G5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 80	2 мкл	H5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 81	2 мкл	A6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 82	2 мкл	B6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 83	2 мкл	C6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 84	2 мкл	D6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 85	2 мкл	E6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 86	2 мкл	F6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 87	2 мкл	G6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных

			олигонуклеотидов
Адаптер 88	2 мкл	Н6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов

3. Комплект для циркуляризации библиотек:

Название	Объем	Количество	Описание
Сплинт буфер	46,5 мкл	1 пробирка	Буферный раствор с олигонуклеотидами.
ДНК-лигаза Ц	2,0 мкл	1 пробирка	Раствор фермента ДНК-лигаза в буферном растворе для хранения
Буфер для расщепления	5,75 мкл	1 пробирка	Буфер, содержащий экзонуклеазу
Расщепляющий фермент	10,5 мкл	1 пробирка	Раствор фермента экзонуклеаза в буферном растворе для хранения
Стоп-буфер	30 мкл	1 пробирка	Буфер, который ингибирует экзонуклеазу.
Частицы для очистки ДНК	800 мкл	1 пробирка	Суспензия магнитных частиц в буферном растворе
TE буфер Ц	400 мкл	1 пробирка	Tris-HCl буфер с низким содержанием ЭДТА

4. ПО "Solo AVES" <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023

Состав Набора «HELICON® ABC Плюс С-Б» включает:

1. Комплект для целевого обогащения ДНК

Название	Объем	Количество	Описание
Раствор праймеров 1	240 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов в концентрации 100 нМ/л
Раствор праймеров 2	240 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов в концентрации 100 нМ/л
ПЦР-смесь 1	192 мкл	1 пробирка	Буферный раствор, содержащий ДНК-полимеразу
КО	24 мкл	1 пробирка	Водный раствор ДНК человека в концентрации 5 нг/мкл, содержащий генетический вариант chr17:41209079T>TG

2. Комплект для приготовления библиотек:

Название	Объем	Количество	Описание
Активатор	96 мкл	1 пробирка	Буферный раствор в 50% глицерине, содержащий урацил-ДНК гликозилазу
Раствор Л	192 мкл	1 пробирка	Буферный раствор на основе Tris-HCl
ДНК-лигаза	96 мкл	1 пробирка	Раствор фермента ДНК-лигаза в буферном растворе для хранения
Магнитные частицы	3840 мкл	1 пробирка	Суспензия магнитных частиц в буферном растворе
Реагент В	4500 мкл	1 пробирка	Многокомпонентная смесь на основе высококонцентрированного солевого раствора
Раствор праймеров 3	192 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов
ТЕ буфер	4500 мкл	1 пробирка	Tris-HCl буфер с низким содержанием ЭДТА
ПЦР-смесь 2	2 × 1152 мкл	2 пробирки	Буферный раствор с нуклеозид-трифосфатами и ДНК-полимеразой
Адаптер 89	2 мкл	A1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 90	2 мкл	B1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 91	2 мкл	C1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 92	2 мкл	D1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов

Адаптер 93	2 мкл	E1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 94	2 мкл	F1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 95	2 мкл	G1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 96	2 мкл	H1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 97	2 мкл	A2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 98	2 мкл	B2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 99	2 мкл	C2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 100	2 мкл	D2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 101	2 мкл	E2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 102	2 мкл	F2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов

Адаптер 103	2 мкл	G2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 104	2 мкл	H2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 121	2 мкл	A3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 122	2 мкл	B3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 123	2 мкл	C3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 124	2 мкл	D3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 125	2 мкл	E3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 126	2 мкл	F3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 127	2 мкл	G3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 128	2 мкл	H3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов

Адаптер 25	2 мкл	A4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 26	2 мкл	B4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 117	2 мкл	C4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 28	2 мкл	D4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 29	2 мкл	E4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 30	2 мкл	F4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 114	2 мкл	G4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 32	2 мкл	H4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 33	2 мкл	A5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 34	2 мкл	B5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов

Адаптер 35	2 мкл	C5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 36	2 мкл	D5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 37	2 мкл	E5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 38	2 мкл	F5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 39	2 мкл	G5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 115	2 мкл	H5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 49	2 мкл	A6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 50	2 мкл	B6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 51	2 мкл	C6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 52	2 мкл	D6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов

Адаптер 53	2 мкл	Е6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 116	2 мкл	Е6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 55	2 мкл	Г6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 56	2 мкл	Н6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов

3. Комплект для циркуляризации библиотек:

Название	Объем	Количество	Описание
Сплинт буфер	46,5 мкл	1 пробирка	Буферный раствор с олигонуклеотидами.
ДНК-лигаза Ц	2,0 мкл	1 пробирка	Раствор фермента ДНК-лигаза в буферном растворе для хранения
Буфер для расщепления	5,75 мкл	1 пробирка	Буфер, содержащий экзонуклеазу
Расщепляющий фермент	10,5 мкл	1 пробирка	Раствор фермента экзонуклеаза в буферном растворе для хранения
Стоп-буфер	30 мкл	1 пробирка	Буфер, который ингибирует экзонуклеазу.
Частицы для очистки ДНК	800 мкл	1 пробирка	Суспензия магнитных частиц в буферном растворе
ТЕ буфер Ц	400 мкл	1 пробирка	Tris-HCl буфер с низким содержанием ЭДТА

4. ПО "Solo AVES" <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023

Состав Набора «HELICON® ABC Плюс А» включает:

1. Комплект для целевого обогащения ДНК

Название	Объем	Количество	Описание
Раствор праймеров 1	240 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов в концентрации 100 нМ/л

Раствор праймеров 2	240 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов в концентрации 100 нМ/л
ПЦР-смесь 1	192 мкл	1 пробирка	Буферный раствор, содержащий ДНК-полимеразу
КО	24 мкл	1 пробирка	Водный раствор ДНК человека в концентрации 5 нг/мкл, содержащий генетический вариант chr17:41209079T>TG

2. Комплект для приготовления библиотек

Название	Объем	Количество	Описание
Активатор	96 мкл	1 пробирка	Буферный раствор в 50% глицерине, содержащий урацил-ДНК гликозилазу
Раствор Л	192 мкл	1 пробирка	Буферный раствор на основе Tris-HCl
ДНК-лигаза	96 мкл	1 пробирка	Раствор фермента ДНК-лигаза в буферном растворе для хранения
Магнитные частицы	3840 мкл	1 пробирка	Суспензия магнитных частиц в буферном растворе
Реагент В	4500 мкл	1 пробирка	Многокомпонентная смесь на основе высококонцентрированного солевого раствора
Раствор праймеров 3	192 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов
TE буфер	4500 мкл	1 пробирка	Tris-HCl буфер с низким содержанием ЭДТА
ПЦР-смесь 2	2 × 1152 мкл	2 пробирки	Буферный раствор с нуклеозид-трифосфатами и ДНК-полимеразой
Адаптер 1	2 мкл	A1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 2	2 мкл	B1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов

Адаптер 3	2 мкл	C1 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 4	2 мкл	D1 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 13	2 мкл	E1 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 14	2 мкл	F1 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 15	2 мкл	G1 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 16	2 мкл	H1 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 41	2 мкл	A2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 42	2 мкл	B2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 43	2 мкл	C2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 44	2 мкл	D2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных

			олигонуклеотидов
Адаптер 45	2 мкл	E2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 46	2 мкл	F2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 47	2 мкл	G2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 48	2 мкл	H2 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 57	2 мкл	A3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 58	2 мкл	B3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 59	2 мкл	C3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 60	2 мкл	D3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 61	2 мкл	E3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 62	2 мкл	F3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных

			олигонуклеотидов
Адаптер 63	2 мкл	G3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 64	2 мкл	H3 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 65	2 мкл	A4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 66	2 мкл	B4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 67	2 мкл	C4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 68	2 мкл	D4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 69	2 мкл	E4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 70	2 мкл	F4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 71	2 мкл	G4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 72	2 мкл	H4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных

			олигонуклеотидов
Адаптер 73	2 мкл	A5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 74	2 мкл	B5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 75	2 мкл	C5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 76	2 мкл	D5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 77	2 мкл	E5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 78	2 мкл	F5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 79	2 мкл	G5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 80	2 мкл	H5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 81	2 мкл	A6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 82	2 мкл	B6 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных

			олигонуклеотидов
Адаптер 83	2 мкл	С6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 84	2 мкл	D6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 85	2 мкл	E6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 86	2 мкл	F6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 87	2 мкл	G6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 88	2 мкл	H6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов

3. ПО "Solo AVES" <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023

Состав Набора «HELICON® ABC Плюс Б» включает:

1. Комплект для целевого обогащения ДНК

Название	Объем	Количество	Описание
Раствор праймеров 1	240 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов концентрации 100нМ/л
Раствор праймеров 2	240 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов концентрации 100нМ/л
ПЦР-смесь 1	192 мкл	1 пробирка	Буферный раствор, содержащий ДНК-полимеразу
КО	24 мкл	1 пробирка	Водный раствор ДНК человека в концентрации 5 нг/мкл,

		содержащий генетический вариант chr17:41209079T>TG
--	--	---

2. Комплект для приготовления библиотек:

Название	Объем	Количество	Описание
Активатор	96 мкл	1 пробирка	Буферный раствор в 50% глицерине, содержащий урацил-ДНК гликозилазу
Раствор Л	192 мкл	1 пробирка	Буферный раствор на основе Tris-HCl
ДНК-лигаза	96 мкл	1 пробирка	Раствор фермента ДНК-лигаза в буферном растворе для хранения
Магнитные частицы	3840 мкл	1 пробирка	Суспензия магнитных частиц в буферном растворе
Реагент В	4500 мкл	1 пробирка	Многокомпонентная смесь на основе высококонцентрированного солевого раствора
Раствор праймеров 3	192 мкл	1 пробирка	Водный раствор олигонуклеотидов
ТЕ буфер	4500 мкл	1 пробирка	Tris-HCl буфер с низким содержанием ЭДТА
ПЦР-смесь 2	2 × 1152 мкл	2 пробирки	Буферный раствор с нуклеозид-трифосфатами и ДНК-полимеразой
Адаптер 89	2 мкл	A1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 90	2 мкл	B1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 91	2 мкл	C1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 92	2 мкл	D1 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных

			олигонуклеотидов
Адаптер 93	2 мкл	E1 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 94	2 мкл	F1 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 95	2 мкл	G1 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 96	2 мкл	H1 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 97	2 мкл	A2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 98	2 мкл	B2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 99	2 мкл	C2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 100	2 мкл	D2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 101	2 мкл	E2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 102	2 мкл	F2 лунка в плашке	Водный раствор

			двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 103	2 мкл	G2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 104	2 мкл	H2 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 121	2 мкл	A3 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 122	2 мкл	B3 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 123	2 мкл	C3 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 124	2 мкл	D3 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 125	2 мкл	E3 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 126	2 мкл	F3 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 127	2 мкл	G3 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 128	2 мкл	H3 лунка в плашке	Водный раствор

			двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 25	2 мкл	A4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 26	2 мкл	B4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 117	2 мкл	C4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 28	2 мкл	D4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 29	2 мкл	E4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 30	2 мкл	F4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 114	2 мкл	G4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 32	2 мкл	H4 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 33	2 мкл	A5 лунка в плашке	Водный раствор двуцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 34	2 мкл	B5 лунка в плашке	Водный раствор

			двухпочечных олигонуклеотидов
Адаптер 35	2 мкл	C5 лунка в плашке	Водный раствор двухпочечных олигонуклеотидов
Адаптер 36	2 мкл	D5 лунка в плашке	Водный раствор двухпочечных олигонуклеотидов
Адаптер 37	2 мкл	E5 лунка в плашке	Водный раствор двухпочечных олигонуклеотидов
Адаптер 38	2 мкл	F5 лунка в плашке	Водный раствор двухпочечных олигонуклеотидов
Адаптер 39	2 мкл	G5 лунка в плашке	Водный раствор двухпочечных олигонуклеотидов
Адаптер 115	2 мкл	H5 лунка в плашке	Водный раствор двухпочечных олигонуклеотидов
Адаптер 49	2 мкл	A6 лунка в плашке	Водный раствор двухпочечных олигонуклеотидов
Адаптер 50	2 мкл	B6 лунка в плашке	Водный раствор двухпочечных олигонуклеотидов
Адаптер 51	2 мкл	C6 лунка в плашке	Водный раствор двухпочечных олигонуклеотидов
Адаптер 52	2 мкл	D6 лунка в плашке	Водный раствор

			двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 53	2 мкл	Е6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 116	2 мкл	Е6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 55	2 мкл	Г6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов
Адаптер 56	2 мкл	Н6 лунка в плашке	Водный раствор двухцепочечных олигонуклеотидов

3. ПО “Solo AVES” <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023

2.2. Характеристики набора

2.2.1. Аналитическая чувствительность – минимальная концентрация выделенной из FFPE и цельной крови ДНК в пробе, необходимая для проведения анализа, составляет 5 нг/мкл. Минимальная концентрация выделенной из плазмы ДНК в пробе, необходимая для проведения анализа, составляет 1 нг/мкл. Чистота анализируемой ДНК, выраженная в отношении оптических плотностей A260/280 нм, должна составлять не менее 1.6 – 1.8.

2.2.2. Аналитическая специфичность – способность выявлять генетические варианты в заданных областях генома, отсутствие неспецифических реакций.

На этапе разработки набора был проведен *in silico* анализ, который показал, что используемые для таргетной амплификации праймеры не имеют достаточной гомологии с геномной ДНК человека за пределами целевой последовательности. Это означает, что при использовании набора реагентов нарабатывается только специфичный продукт целевых генов. Это также подтверждается результатами последующего анализа последовательности полученных прочтений: 100% выровненных прочтений корректно отнесены целевым регионам генома. Таким образом, в отсутствие примесей чужеродной (не человеческой) ДНК нет оснований ожидать проявления кросс-реактивности. Дополнительно, чтобы оценить влияние экзогенного влияния, была выполнена двухэтапная проверка кросс-реактивности разработанной панели праймеров для оценки возможного влияния контаминации образца сторонними источниками ДНК, по результатам которой установлено, что экспериментальный контроль перекрестной реактивности не рекомендован в рамках производственного цикла данного набора.

2.2.3. Правильность – совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью набора, с результатами, полученными с помощью секвенирования по Сэнгеру. Составляет 100%.

2.2.4. Повторяемость - совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью одного набора в условиях повторяемости. Составляет 100%.

2.2.5. Предел обнаружения (LoD) - наименьшая частота мутантного аллеля в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, которую способно выявлять изделие. Составляет 10%.

2.2.6. Воспроизводимость – совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью 2-х наборов одной серии в условиях воспроизводимости. Составляет 100%.

2.2.7. Диагностические характеристики. Для определения диагностических характеристик медицинского изделия было проведено исследование 300 образцов, из них: 100 образцов цельной крови, 100 образцов плазмы крови, 100 - FFPE-блоков.

Диагностическая чувствительность определялась как доля, выраженная в %, истинно положительных результатов ко всем получившимся положительными и составила 100%.

Диагностическая специфичность определялась как доля, выраженная в %, истинно отрицательных ко всем получившимся отрицательными и составила 100%.

Показатели нижней границы интервала, в котором находится «истинное» значение диагностических характеристик суммарно и для разных видов клинических образцов, согласно результатам клинических испытаний, соответствуют значениям, приведенным в таблице № 3.

Таблица №3
Значения диагностических характеристик набора

Клинический материал	Количество образцов от пациентов	Результаты испытаний	
		Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
		с доверительной вероятностью 95%	
Суммарно по всем образцам	300	98,0-100%	98,0-100%
Плазма крови	100	94,2-100%	94,2-100%
Цельная кровь	100	94,2-100%	94,2-100%
FFPE-блоки	100	94,2-100%	94,2-100%

Показатели нижней границы интервала, в котором находится «истинное» значение диагностической чувствительности (с доверительной вероятностью 95%), по каждому обнаруженному генетическому варианту, согласно результатам клинических испытаний, составляют: 97 – 100% - для целевого региона гена BRCA1, 83,8 – 100% - для целевого региона гена BRCA2, 47,2 – 100% - для целевого региона гена CHEK2, 83,8 – 100% - для целевого региона гена PALB2, 60,6 – 100% - для целевого региона гена ATM, 60,6 – 100% - для целевого региона гена PIK3CA.

Также, в результате проведенных клинических испытаний были подтверждены: воспроизводимость 100%, повторяемость 100%, правильность 100%.

3. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

3.1. Класс потенциального риска применения набора – 26 (ГОСТ 31508 «Изделия медицинские. Классификация в зависимости от потенциального риска применения. Общие требования», Номенклатурная классификация медицинских изделий, утв. Приказом Минздрава Российской Федерации от 6 июня 2012 года № 4н).

При проведении исследования необходимо строго придерживаться общих стандартов по формированию и поддержанию безопасности рабочей среды в медицинских лабораториях при манипуляциях с биологическим материалом человека, химическими реактивами и другими объектами потенциальной опасности для здоровья людей в соответствии с ГОСТ Р 52905.

Рассматривать исследуемые образцы как инфекционно-опасные, организовывать работу и хранение в соответствии с МУ 1.3.2569-09 "Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности".

3.2 При работе с набором необходимо выполнять следующие требования:

- Выполнять анализ с помощью данного набора допускается лицами, не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским или биологическим образованием, обученных методам молекулярной диагностики и правилам работы в клинико-диагностической лаборатории в установленном порядке (МУ 1.3.2569-09 "Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности").
- Все сотрудники должны выполнять инструкции и правила техники безопасности, изложенные в технических паспортах к электрическим приборам, используемым в технологии (амплификаторы, центрифуги, термостаты и др.); персонал, работающий с реактивами, должен быть обучен обращению с ними, использовать средства персональной защиты, соблюдать правила личной гигиены.
- Лабораторный процесс должен быть однонаправленным. Анализ проводится в отдельных помещениях (зонах). Для предотвращения контаминации этапы подготовки к амплификации (ПЦР) и лигированию следует проводить в отдельных помещениях или тщательно изолированных зонах, снабженных комплектами полуавтоматических пипеток, халатами, стеклянной посудой и прочими принадлежностями. Не возвращать образцы, оборудование и реагенты в зону, в которой была проведена предыдущая стадия процесса.
- Работу с анализируемыми образцами следует проводить в одноразовых медицинских перчатках без талька (неопудренных).
- Не допускается использование одних и тех же наконечников при обработке различных образцов клинического материала.
- Поверхности рабочих столов, а также рабочих помещений следует обрабатывать бактерицидными облучателями до и после проведения работ в течение 1 часа.
- Химическая посуда и оборудование, которые используются при работе, должны быть соответствующим образом маркированы и храниться отдельно.
- Использованные одноразовые принадлежности (пробирки, наконечники) должны сбрасываться в специальный контейнер, содержащий дезинфицирующий раствор.
- Неиспользованные реагенты, реагенты с истекшим сроком годности, использованные реагенты, упаковку, биологический материал, включая материалы, инструменты и предметы, загрязненные биологическим материалом, следует удалять в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3684-21.
- Набор предназначен для однократного применения. Применять набор строго по назначению.
- Не использовать набор, если нарушена внутренняя упаковка или внешний вид реагента не соответствует описанию.
- Не использовать набор, если не соблюдались условия транспортирования и хранения согласно инструкции.
- Не использовать набор по истечении срока годности.
- Не есть, не пить, не курить в процессе использования набора. Избегать вдыхания паров, контакта с кожей и слизистой оболочкой. Не глотать.

3.3 Оценка вероятных событий, в результате наступления которых могут произойти отрицательные последствия для организма человека.

При использовании по назначению и соблюдении вышеперечисленных мер предосторожности набор безопасен. При аварийных ситуациях возможно следующее:

- раздражение слизистой оболочки глаз у чувствительных лиц;
- раздражение кожи у чувствительных лиц;

- аллергические реакции.

При попадании компонентов набора на кожу и слизистые оболочки – тщательно вымыть руки. Если раздражение не проходит – обратиться за медицинской помощью. При попадании внутрь прополоскать рот водой, при плохом самочувствии - обратиться за медицинской помощью.

Оценка специфических воздействий набора реагентов на организм человека:

- канцерогенный эффект отсутствует;
- мутагенное воздействие отсутствует;
- репродуктивная токсичность отсутствует.

4.ОБОРУДОВАНИЕ, РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ

1. Генетический секвенатор: «Секвенатор генетический HELICON®» (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023) производства ООО "Ухань ЭмДжиАй Тех Ко., Лтд."
2. Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот C1000, с принадлежностями (Bio-Rad Laboratories, Inc, США).
3. Магнитный штатив для пробирок на 0,2 мкл стрипованных или однокостящих МагниРэк-3202-ОС (ООО "НПФ Хеликон", Россия, РЗН 2022/16360 от 21.01.2022).
4. Магнитный штатив для пробирок на 1,5-2,0 мл МагниРэк-2415-О (ООО "НПФ Хеликон", Россия, РЗН 2022/16360 от 21.01.2022).
5. Миницентрифуга-вортекс (FV-2400, SIA "Biosan", Латвия).
6. Анализатор NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, США).
7. Дозаторы пипеточные переменного объема со сменными наконечниками с диапазонами измерения от 0,5 до 10 мкл, от 2 до 20 мкл, от 10 до 100 мкл, от 20 до 200 мкл и от 100 до 1000 мкл Eppendorf Research® Plus с принадлежностями (Eppendorf AG, Германия).
8. Салфетки безворсовые Kimwipes (Kimtech).
9. Пробирки 1,5 мл - 2,0 мл типа Eppendorf из полимерных материалов для лабораторных исследований in vitro DNA LoBind, PCR clean (Eppendorf AG, Германия).
10. Пробирки в стрипах по 8 штук с отдельно прикрепленными плоскими крышками, PCR clean, бесцветные (Scientific Specialties Incorporated, США).
11. Штатив для пробирок 0,5 мл «рабочее место» на 200 лунок.
12. Центрифуга лабораторная «Eppendorf» Centrifuge 54xx, с принадлежностями (Centrifuge 5430) (Eppendorf AG, Германия).
13. ПЦР-бокс.
14. Штатив для стрипов и планшетов.
15. Четырехсторонний штатив для пробирок разного объема (50 мл, 15 мл, 1,5 мл – 2,0 мл, 0,5 мл).
16. Перчатки нитриловые неопудренные.
17. Спирт этиловый лабораторный, 96%.
18. Холодильная камера, поддерживающая температуру 2-8°C.
19. Морозильная камера, поддерживающая температуру от минус 20 до минус 22°C.
20. Вода деионизованная бидистиллированная.
21. Пластиковый пинцет.
22. Пробирки типа Falcon 50 мл.
23. Наконечники для дозаторов разного объема с фильтром
24. Секундомер механический однострелочный СО.
25. Холодные штативы для пробирок на 1,5-2 мл и для пробирок на 0,2 мл.

26. «Набор реагентов MGI G50 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» (РЗН 2023/21588 от 28.11.2023)³/ «Набор реагентов MGI G400 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» (РЗН 2023/21587 от 29.11.2023)⁴.

5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ И ПРОБОПОДГОТОВКА

5.1. Пробоподготовка. Для выявления генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, используют пробы геномной ДНК, выделенные из цельной крови, операционного (биопсийного) материала пациента, фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE-блоки), а также пробы ДНК, выделенной из плазмы крови пациента ("жидкостная биопсия").

Процедура получения клинических образцов должна строго соответствовать инструкции по эксплуатации совместимых наборов для выделения ДНК.

Для цельной крови необходимо соблюдать следующие требования: взятие крови проводится в пластиковые пробирки объемом 2,5 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой соли этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2 мг/мл. Для перемешивания содержимого пробирку переворачивают 2–3 раза. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия.

ВНИМАНИЕ! Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

Для длительного хранения следует применять формалиновую фиксацию материала с последующим заключением образцов в формалин (FFPE-блоки).

Для парафиновых блоков (FFPE) необходимо соблюдать следующие требования:

Предварительно провести их морфологический анализ. Рекомендовано использовать образцы, в которых ткань опухоли занимает не менее 80% площади препарата, допустимое минимальное количество опухоли - не менее 20% площади препарата. В случае невыполнения данного условия рекомендуется подготовить гистологический препарат биоматериала и по результатам гистологического исследования провести разметку препарата с обратной стороны предметного стекла, отметив границы зоны опухоли.

В дальнейшем для выделения ДНК необходимо использовать отмеченную область препарата, содержащую опухолевую ткань. Для проведения исследования рекомендуется использовать фрагмент парафинового блока, соответствующий следующим параметрам: толщина каждого среза от 5 до 6 мкм; суммарная площадь фрагментов фиксированной ткани и комплексов клеток человека от 2 см². Хранить и транспортировать материал в парафиновых блоках (FFPE) необходимо при температуре от +5 до +40 °С с соблюдением мер, предотвращающих контаминацию образцов чужеродной ДНК.

Для выделения ДНК из плазмы крови пациента, следует соблюдать следующие правила: взятие крови, обычно 8 мл, проводится в специализированные пробирки, предназначенные для сбора, транспортировки и хранения образца венозной крови с

³ Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»:

Набор реагентов G50 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G50 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G50 SM FCS PE100 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G50 SM FCS PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

⁴ Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»:

Набор реагентов G400 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G400 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

целью анализа внеклеточной ДНК. Для перемешивания содержимого с антикоагулянтом и стабилизатором пробирку следует аккуратно перевернуть 8–10 раз. Пробирку с кровью следует хранить согласно инструкции производителя в темном месте при комнатной температуре.

Центрифугирование пробирки крови и отбор плазмы выполняется в лаборатории непосредственно перед выделением ДНК. На первом этапе центрифугирование проводят в пробирках с образцами крови в течение 15 минут на скорости 1900g при 4 °С. Не задевая осадка супернатант аккуратно переносят в чистые пробирки, затем еще раз центрифугируют 10 минут на 16000g при 4°С. Супернатант переносят в чистые пробирки. Далее следует переходить к выделению ДНК или заморозить и хранить супернатант при -20°С или -80°С до момента выделения.

5.2. Экстракция ДНК из исследуемых образцов

Выделение ДНК из образцов цельной крови осуществляется с помощью набора «Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала НК-сорбент для диагностики *in vitro* по ТУ 21.20.23-232-17253567-2018» (ПУ №РЗН 2019/9331 от 02.12.2019), из парафиновых блоков (FFPE) - с помощью наборов «Экстракт ДНК FFPE набор реагентов для выделения ДНК человека из срезов с FFPE _блоков для диагностики *in vitro* по ТУ 9398_001_11248074_12017» (ПУ № РЗН 2019/9172 от 14 апреля 2020) и «Набор реагентов для выделения ДНК cobas DNA Sample Preparation Kit (cobas DNA Sample Preparation Kit, 24)» (ПУ №ФСЗ 2012/12715 от 03 августа 2017), из плазмы крови - с помощью набора «Набор реагентов для выделения ДНК cobas cfDNA Sample Preparation Kit (cobas cfDNA Sample Preparation Kit, 24)» (ПУ №ФСЗ 2012/12715 от 03 августа 2017).

Получение и транспортировку клинических образцов следует выполнять в соответствии с требованиями и инструкциями соответствующих наборов для выделения ДНК.

Образцы ДНК, выделенной из цельной крови, операционного (биопсийного материала), фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE-блоки), должны иметь концентрацию не менее 5 нг/мкл. Дополнительно рекомендуется для оценки степени чистоты выделенного образца ДНК из парафиновых блоков использовать значение соотношения поглощения света образцом ДНК на длинах волн 260 нм и 280 нм (A260/280). Рекомендуемое значение соотношения – не менее 1.6 – 1.8.

Для свободно циркулирующей ДНК (сДНК), выделенной из плазмы крови, концентрация ДНК должна быть не меньше 1 нг/мкл. Дополнительно рекомендуется провести фрагментный анализ выделенной сДНК, чтобы убедиться, что в ней нет примеси геномной ДНК.

5.3. Интерферирующие вещества

В процессе анализа рисков набора определены требования безопасности: установлен класс потенциального риска применения медицинского изделия, а также перечень стандартов и требований, соблюдение которых обеспечивает безопасность при работе с набором. Выявлены вероятные неблагоприятные события и специфические воздействия на организм человека, которые могут произойти при работе с набором. Проведен анализ возможных интерферирующих веществ, способных повлиять на результат анализа, проводимых с помощью набора. По результатам проведенной проверки было показано, что нижеперечисленные вещества, в указанных концентрациях, не оказывают интерферирующего влияния на результат анализа:

1) при работе с образцами цельной крови:

Гемоглобин	3 г/л (сыворотка и плазма)
Билирубин	20,5 мкмоль/л
Холестерин	5 ммоль/л
Триглицериды	2,25 ммоль/л
Миоглобин	160 нг/л
K2-ЭДТА	1,8 мг/мл
Цитрат натрия	0,129 моль/л

2) при работе с FFPE-блоками:

Парафин гистологический - $2 \cdot 10$ (-4) мкл / 200 мкл раствора ДНК

Ксилол 98% - $2 \cdot 10$ (-4) мкл / 200 мкл раствора ДНК

Этиловый спирт (95%) - $1,35 \cdot 10$ (-4) мкл / 200 мкл раствора ДНК

Протеиназа К - 200 мкг/мкл

3) при работе с образцами плазмы крови:

Гемоглобин	1,5 г/л
Билирубин	0,2 г/л
Изопропиловый спирт (99,9%)	$2,00 \cdot 10^{-3}$ на 200 мкл раствора ДНК
Триглицериды	37 мМ
Этиловый спирт (95%)	$1,40 \cdot 10^{-3}$ на 200 мкл раствора ДНК
K2-ЭДТА	1,8 мг/мл
Протеиназа К	200 мкг/мкл

Остаточные риски влияния интерферирующих веществ исключаются за счет определения минимальной глубины покрытия в качестве внутреннего контроля. Средняя глубина покрытия отражает сколько раз «прочитывается» каждый нуклеотид целевой последовательности. При анализе библиотек ДНК, приготовленных с помощью набора из ДНК, выделенной из цельной крови и плазмы крови, а также из операционного или биопсийного материала, фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE блоки), рекомендованная глубина покрытия составляет не менее 5000х. Показатели средней глубины прочтения анализируемых образцов можно проверить в программе "Solo AVES".

5.4. Ограничения по использованию проб исследуемого материала.

Анализируемый материал не подлежит использованию при нарушении условий хранения и транспортировки. Анализируемая ДНК должна храниться и транспортироваться при температуре от 2 °С до 8 °С и использоваться для анализа в течение 24 часов. Для хранения более 24 часов раствор ДНК рекомендуется хранить при температуре -20°С.

Чистота анализируемой ДНК, выраженная в отношении оптических плотностей A260/280 нм, должна составлять не менее 1.6 – 1.8.

Достаточная для проведения анализа концентрация ДНК, выделенной из цельной крови, операционного (биопсийного материала), фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE-блоки), должна составлять 5 нг/мкл.

Достаточная для проведения анализа концентрация ДНК, выделенной из плазмы крови, должна составлять 1 нг/мкл.

6. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Проведение анализа при работе с набором состоит из следующих этапов:

1. Подготовка и проведение целевого обогащения ДНК.
2. Приготовление библиотек ДНК.
3. Циркуляризация библиотек.
4. Подготовка ДНК-наношариков.
5. Секвенирование.
6. Интерпретация результатов.

Варианты исполнения «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б» включают компоненты для целевого обогащения ДНК, приготовления библиотек и циркуляризации библиотек и отличаются только набором адаптеров. Этапы проведения анализа вариантами исполнения «HELICON® ABC Плюс А» и «HELICON® ABC Плюс Б» аналогичны этапам проведения анализа вариантами исполнения «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б», но не включают этапы циркуляризации библиотек.

ВНИМАНИЕ! Реагенты для экстракции ДНК из биоматериала, подготовки ДНК-наношариков и секвенирования не входят в состав Набора реагентов.

6.1. Проведение анализа для варианта исполнения «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б»

6.1.1. Подготовка и проведение целевого обогащения ДНК

ВНИМАНИЕ! Все манипуляции рекомендуется проводить на льду или в охлажденных штативах.

1. Приготовить анализируемые образцы ДНК: оттаять при комнатной температуре, встряхнуть на вортексе и коротко центрифугировать для осаждения капель с крышки и стенок пробирок. Каждый образец ДНК, выделенный из операционного (биопсийного) материала пациента, фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE-блоки) или цельной крови, должен быть разведен до концентрации 5 нг/мкл.
2. Приготовить растворы праймеров 1 и 2: оттаять при комнатной температуре, встряхнуть на вортексе и коротко центрифугировать для осаждения капель с крышки и стенок пробирок.
3. Приготовить 2 раствора для амплификации (по одному для каждого раствора праймеров) на необходимое количество реакций согласно таблице:

Компонент	Объем на 1 реакцию
ПЦР-смесь 1	2 мкл
Праймеры (№1 или №2)	5 мкл
Всего	7 мкл

4. Смешать в отдельных пробирках стрипа по 3 мкл образца с каждым раствором для амплификации. Пробирки должны быть совместимы с используемым термоциклером.

ВНИМАНИЕ! Сначала раскапать по индивидуальным пробиркам готовые смеси для амплификации, затем отдельными наконечниками - исследуемые образцы и КО.

5. Пробирки с образцами и КО плотно закрыть, перемешать смесь на вортексе и осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек. Поместить в термоциклер.

6. Запрограммировать термоциклер и запустить программу амплификации:

Количество циклов	Шаг	Т°С	Время
1 цикл	Активация ферментов	95 °С	15 мин
19 циклов для плазмы – 22 цикла	Денатурация	99 °С	15 сек
	Отжиг и элонгация	60 °С	4 мин
1 цикл	Хранение	4°С	∞

ВАЖНО! ПЦР продукт может храниться 1 ночь при 4-10°С, при более долгом хранении ПЦР продукт должен храниться при –20°С.

6.1.2. Приготовление библиотек ДНК

ВНИМАНИЕ! Работа проводится в Зоне для работы с продуктами амплификации.

7. Перемешать содержимое каждой пробирки пипетированием и объединить продукты ПЦР каждого образца из обеих пробирок. Полученный объем для каждого образца будет составлять 20 мкл.

8. Добавить индивидуальным наконечником по 2 мкл Активатора в каждую пробирку с объединенными продуктами ПЦР.

9. Тщательно перемешать пипетированием, не допуская образования пузырей. Пробирки плотно закрыть, осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек. Установить пробирки в термоциклер.

10. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Температура, °С	Время	Кол-во циклов
50	10 мин	1
55	10 мин	
60	20 мин	
10	Хранение не более 1 часа	

11. По окончании выполнения программы извлечь пробирки из реакционного модуля прибора.

12. К каждому образцу внести по 2 мкл Адаптера. Зафиксировать номер адаптера, соответствующий каждому образцу (например, Адаптер 1 для образца 1). В одном запуске секвенирования каждому образцу должен соответствовать уникальный (неповторяющийся) адаптер — это необходимо для идентификации образцов в

результатах секвенирования. Адаптеры из наборов «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б» можно комбинировать в запуске.

13. Тщательно перемешать смесь пипетированием.
14. При необходимости сбросить капли со стенок кратким центрифугированием.
15. Приготовить смесь 2 мкл ДНК-Лигазы и 4 мкл Буфера Л на необходимое количество образцов согласно схеме, добавить к каждому образцу по 6 мкл премикса.

Компонент	Объем на 1 реакцию
ДНК-Лигаза	2 мкл
Буфера Л	2 мкл
Всего	4 мкл

16. Пробирки плотно закрыть, перемешать содержимое, осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек. Установить пробирки в термоциклер.
17. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Температура	Время
22°C	30 минут
72°C	10 минут
10°C	(хранение до 1 часа)

18. Вынуть пробирки из термоциклера.

Первый этап очистки

19. Приготовить суспензию Магнитных частиц с деионизованной водой в соотношении 22 мкл частиц и 20 мкл воды на одну реакцию.
20. Внести 42 мкл приготовленной суспензии в каждую пробирку с библиотекой, инкубировать 5 минут при комнатной температуре.
21. Поместить стрип, в котором находится реакционная смесь, на магнитный штатив МагнiРэк-3202 и инкубировать на нем в течение 5 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в пробирках не станет прозрачной.
22. Перенести супернатант в новую соответствующую пробирку пустого стрипа, не задевая осадок частиц.

ВАЖНО! Супернатант содержит библиотеку.

Второй этап очистки

23. Внести 58 мкл Магнитных частиц в каждую пробирку, содержащую библиотеку.
24. Тщательно перемешать содержимое пипетированием.
25. Инкубировать 5 минут при комнатной температуре.
26. Поместить стрип, в котором находится реакционная смесь, на магнитный штатив МагнiРэк-3202 и инкубировать на нем в течение 5 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в пробирках не станет прозрачной. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая магнитных частиц.

ВАЖНО! Библиотека содержится на магнитных частицах!

27. Добавить по 150 мкл свежеприготовленного 80% этанола в каждую пробирку и четырежды переместить стрип в магнитном штативе относительно рядов, или тщательно перемешать, для промывки магнитных частиц. Инкубировать на магнитном штативе

пока смесь в пробирках не станет прозрачной.

28. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая магнитных частиц в пробирке.

29. Повторить шаги 27-28 для повторной промывки магнитных частиц.

30. Убедиться в том, что капли спирта полностью удалены из пробирок. При необходимости осадить на центрифуге, поместить на магнитный штатив, инкубировать 30 секунд при комнатной температуре и удалить излишки спирта пипеткой на 10 мкл, не задевая магнитных частиц. Просушить магнитные частицы на воздухе в течение 5 минут, не вынимая из магнитного штатива. Важно не пересушить магнитные частицы.

31. Приготовить раствор для амплификации из 48 мкл ПЦР-смеси 2 и 4 мкл Смеси праймеров 3 согласно схеме:

Компонент	Объем на 1 реакцию
ПЦР-смесь 2	48 мкл
Смесь праймеров 3	4 мкл
Всего	52 мкл

32. Добавить в каждую пробирку по 52 мкл раствора.

33. Перемешать содержимое на вортексе, чтобы ресуспендировать магнитные частицы и осадить на центрифуге для сбора капель. Установить пробирки в термоциклер.

34. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Стадия	Температура	Время
1 цикл	98°C	2 минуты
12 циклов	98°C	20 секунд
	60°C	20 секунд
	72°C	30 секунд
1 цикл	72°C	10 минут
Хранение	10°C	~1 час или более

35. Тщательно перемешать на вортексе Реагент В перед использованием (Реагент В при -20 °С может оставаться в жидком состоянии, либо может быть частично заморожен. Однако, даже в этом случае необходимо довести Реагент В до комнатной температуры и

тщательно перемешать). Добавить 85 мкл Реагента В в каждую библиотеку, и тщательно перемешать на вортексе. Коротко осадить на центрифуге, чтобы сбросить капли.

36. Инкубировать смесь в течение 5 минут при комнатной температуре.

37. Поместить стрип, на магнитный штатив МагнiРэк-3202 и инкубировать на нем в течение 5 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в пробирках не станет прозрачной. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая частицы.

38. Добавить к Магнитным частицам по 150 мкл свежеприготовленного 80% этанола в каждую пробирку и подождать 30 секунд, не снимая пробирку с магнитного штатива. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая магнитных частиц в пробирке

39. Повторить шаг 38 для повторной промывки магнитных частиц.

40. Убедиться в том, что капли спирта полностью удалены из пробирок. При необходимости осадить на центрифуге, поместить на магнитный штатив, инкубировать 30 секунд и удалить излишки спирта, не задевая магнитных частиц. Просушить магнитные частицы на воздухе в течение 5 минут, не вынимая стрип из магнитного штатива. Важно не пересушить магнитные частицы.

41. Удалить стрип с магнитного штатива и добавить в каждую пробирку 35 мкл ТЕ буфера для диспергирования магнитных частиц.

42. Тщательно перемешать содержимое на вортексе для ресуспендирования магнитных частиц и осадить на центрифуге для сбора капель.

43. Поместить стрип на магнитный штатив МагнiРэк-3202 и инкубировать на нем в течение 3 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в ячейках не станет прозрачной. Перенести супернатант с готовыми ДНК библиотеками в новый стрип, не задевая магнитных частиц.

44. Приготовить эквимольную смесь библиотек в количестве не менее 1 пМоль (пикомоль) и объемом не более 48 мкл. В одном анализе (цикле секвенирования) может быть исследовано до 96 библиотек, приготовленных из ДНК, выделенной из опухолевой ткани или до 96 библиотек, приготовленных из образцов ДНК, выделенной из крови, включая контрольные образцы или до 96 библиотек, приготовленных из образцов ДНК, выделенной из плазмы.

ВАЖНО! Неразведенные библиотеки могут храниться на 4-8°C до 1 месяца. Для более длительного хранения поместить библиотеки на -20°C.

45. Перейти к п. 6.3 Циркуляризация библиотек

6.2. Проведение анализа для варианта исполнения «HELICON® ABC Плюс А» и «HELICON® ABC Плюс Б»

6.2.1. Подготовка и проведение целевого обогащения ДНК

ВНИМАНИЕ! Все манипуляции рекомендуется проводить на льду или в охлажденных штативах.

1. Приготовить анализируемые образцы ДНК: оттаять при комнатной температуре, встряхнуть на вортексе и коротко центрифугировать для осаждения капель с крышки и стенок пробирок. Каждый образец ДНК, выделенный из операционного (биопсийного) материала пациента, фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE-блоки) или цельной крови, должен быть разведен до концентрации 5 нг/мкл.

2. Приготовить растворы праймеров 1 и 2: оттаять при комнатной температуре, встряхнуть на вортексе и коротко центрифугировать для осаждения капель с крышки и стенок пробирок.

3. Приготовить 2 раствора для амплификации (по одному для каждого раствора праймеров) на необходимое количество реакций согласно таблице:

Компонент	Объем на 1 реакцию
ПЦР-смесь 1	2 мкл

Праймеры (№1 или №2)	5 мкл
Всего	7 мкл

4. Смешать в отдельных пробирках стрипа по 3 мкл образца с каждым раствором для амплификации. Пробирки должны быть совместимы с используемым термоциклером.

ВНИМАНИЕ! Сначала раскапать по индивидуальным пробиркам готовые смеси для амплификации, затем отдельными наконечниками - исследуемые образцы и КО.

5. Пробирки с образцами и КО плотно закрыть, перемешать смесь на вортексе и осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек. Поместить в термоциклер.

6. Запрограммировать термоциклер и запустить программу амплификации:

Количество циклов	Шаг	Т°С	Время
1 цикл	Активация ферментов	95 °С	15 мин
19 циклов для плазмы – 22 цикла	Денатурация	99 °С	15 сек
	Отжиг и элонгация	60 °С	4 мин
1 цикл	Хранение	4°С	∞

ВАЖНО! ПЦР продукт может храниться 1 ночь при 4-10°С, при более долгом хранении ПЦР продукт должен храниться при –20°С.

6.2.2. Приготовление библиотек ДНК

ВНИМАНИЕ! Работа проводится в Зоне для работы с продуктами амплификации.

7. Перемешать содержимое каждой пробирки пипетированием и объединить продукты ПЦР каждого образца из обеих пробирок. Полученный объем для каждого образца будет составлять 20 мкл.

8. Добавить индивидуальным наконечником по 2 мкл Активатора в каждую пробирку с объединенными продуктами ПЦР.

9. Тщательно перемешать пипетированием, не допуская образования пузырей. Пробирки плотно закрыть, осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек. Установить пробирки в термоциклер.

10. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Температура, °С	Время	Кол-во циклов
50	10 мин	1
55	10 мин	
60	20 мин	
10	Хранение не более 1 часа	

11. По окончании выполнения программы извлечь пробирки из реакционного модуля прибора.

12. К каждому образцу внести по 2 мкл Адаптера. Зафиксировать номер адаптера, соответствующие каждому образцу (например, Адаптер 1 для образца 1). В одном запуске секвенирования каждому образцу должен соответствовать уникальный (неповторяющийся) адаптер — это необходимо для идентификации образцов в результатах секвенирования. Адаптеры из наборов «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б» можно комбинировать между собой.

13. Тщательно перемешать смесь пипетированием.

14. При необходимости сбросить капли со стенок кратким центрифугированием.

15. Приготовить смесь 2 мкл ДНК-Лигазы и 4 мкл Буфера Л на необходимое количество образцов согласно схеме, добавить к каждому образцу по 6 мкл премикса.

Компонент	Объем на 1 реакцию
ДНК-Лигаза	2 мкл
Буфера Л	2 мкл
Всего	4 мкл

16. Пробирки плотно закрыть, перемешать содержимое, осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек. Установить пробирки в термоциклер.

17. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Температура	Время
22°C	30 минут
72°C	10 минут
10°C	(хранение до 1 часа)

18. Вынуть пробирки из термоциклера.

Первый этап очистки

19. Приготовить суспензию Магнитных частиц с деионизованной водой в соотношении 22 мкл частиц и 20 мкл воды на одну реакцию.

20. Внести 42 мкл приготовленной суспензии в каждую пробирку с библиотекой, инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

21. Поместить стрип, в котором находится реакционная смесь, на магнитный штатив МагниРэк-3202 и инкубировать на нем в течение 5 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в пробирках не станет прозрачной.

22. Перенести супернатант в новую соответствующую пробирку пустого стрипа, не задевая осадок частиц.

ВАЖНО! Супернатант содержит библиотеку.

Второй этап очистки

23. Внести 58 мкл Магнитных частиц в каждую пробирку, содержащую библиотеку.

24. Тщательно перемешать содержимое пипетированием.

25. Инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

26. Поместить стрип, в котором находится реакционная смесь, на магнитный штатив МагниРэк-3202 и инкубировать на нем в течение 5 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в пробирках не станет прозрачной. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая магнитных частиц.

ВАЖНО! Библиотека содержится на магнитных частицах!

27. Добавить по 150 мкл свежеприготовленного 80% этанола в каждую пробирку и четырежды переместить стрип в магнитном штативе относительно рядов, или тщательно перемешать, для промывки магнитных частиц. Инкубировать на магнитном штативе пока смесь в пробирках не станет прозрачной.

28. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая магнитных частиц в пробирке.

29. Повторить шаги 27-28 для повторной промывки магнитных частиц.

30. Убедиться в том, что капли спирта полностью удалены из пробирок. При необходимости осадить на центрифуге, поместить на магнитный штатив, инкубировать 30 секунд при комнатной температуре и удалить излишки спирта пипеткой на 10 мкл, не задевая магнитных частиц. Просушить магнитные частицы на воздухе в течение 5 минут, не вынимая из магнитного штатива. Важно не пересушить магнитные частицы.

31. Приготовить раствор для амплификации из 48 мкл ПЦР-смеси 2 и 4 мкл Смеси праймеров 3 согласно схеме:

Компонент	Объем на 1 реакцию
ПЦР-смесь 2	48 мкл
Смесь праймеров 3	4 мкл
Всего	52 мкл

32. Добавить в каждую пробирку по 52 мкл раствора.

33. Перемешать содержимое на вортексе, чтобы ресуспендировать магнитные частицы и осадить на центрифуге для сбора капель. Установить пробирки в термоциклер.

34. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Стадия	Температура	Время
1 цикл	98°C	2 минуты
12 циклов	98 C	20 секунд
	60°C	20 секунд
	72°C	30 секунд
1 цикл	72°C	10 минут
Хранение	10°C	~1 час или более

35. Тщательно перемешать на вортексе Реагент В перед использованием (Реагент В при -20 °C может оставаться в жидком состоянии, либо может быть частично заморожен. Однако, даже в этом случае необходимо довести Реагент В до комнатной температуры и

тщательно перемешать). Добавить 85 мкл Реагента В в каждую библиотеку, и тщательно перемешать на вортексе. Коротко осадить на центрифуге, чтобы сбросить капли.

36. Инкубировать смесь в течение 5 минут при комнатной температуре.

37. Поместить стрип, на магнитный штатив МагниРэк-3202 и инкубировать на нем в течение 5 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в пробирках не станет прозрачной. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая частицы.

38. Добавить к Магнитным частицам по 150 мкл свежеприготовленного 80% этанола в каждую пробирку и подождать 30 секунд, не снимая пробирку с магнитного штатива. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая магнитных частиц в пробирке

39. Повторить шаг 38 для повторной промывки магнитных частиц.

40. Убедиться в том, что капли спирта полностью удалены из пробирок. При необходимости осадить на центрифуге, поместить на магнитный штатив, инкубировать 30 секунд и удалить излишки спирта, не задевая магнитных частиц. Просушить магнитные частицы на воздухе в течение 5 минут, не вынимая стрип из магнитного штатива. Важно не пересушить магнитные частицы.

41. Удалить стрип с магнитного штатива и добавить в каждую пробирку 35 мкл ТЕ буфера для диспергирования магнитных частиц.

42. Тщательно перемешать содержимое на вортексе для ресуспендирования магнитных частиц и осадить на центрифуге для сбора капель.

43. Поместить стрип на магнитный штатив МагниРэк-3202 и инкубировать на нем в течение 3 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в ячейках не станет прозрачной. Перенести супернатант с готовыми ДНК библиотеками в новый стрип, не задевая магнитных частиц.

44. Приготовить эквимольную смесь библиотек в количестве не менее 1 пМоль (пикомоль) и объемом не более 48 мкл. В одном анализе (цикле секвенирования) может быть исследовано до 96 библиотек, приготовленных из ДНК, выделенной из опухолевой ткани, или до 96 библиотек, приготовленных из образцов ДНК, выделенной из крови, включая контрольные образцы, или до 96 библиотек, приготовленных из образцов ДНК, выделенной из плазмы.

ВАЖНО! Неразведенные библиотеки могут храниться на 4-8°C до 1 месяца. Для более длительного хранения поместить библиотеки на -20°C.

6.3 Циркуляризация библиотек

1. Для циркуляризации библиотек контрольных образцов используются соответствующие комплекты из состава наборов «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б».

2. Необходимо пулировать библиотеки таким образом, чтобы общее количество пулированной библиотеки составило 1 пмоль при объеме не более 48 мкл.

3. Перенести 1 пмоль пулированной библиотеки в новую пробирку для ПЦР объемом 0,2 мл. Добавить ТЕ буфер Ц до общего объема 48 мкл.

4. Установить 0,2 мл ПЦР-пробирки с библиотеками в термоциклер.

5. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Температура	Время
Нагрев крышки	Включить
95°C	3 минуты

6. По окончании реакции незамедлительно положить пробирки в лед на 2 минуты, после чего кратковременно центрифугировать.

7. Приготовить раствор для циркуляризации одноцепочечных библиотек на льду. Смешать компоненты в следующем соотношении:

Компонент	Объем
Сплинт буфер	11,6 мкл
ДНК-лигаза Ц	0,5 мкл
Общий объем	12,1 мкл

8. Перенести смешанный раствор для циркуляризации одноцепочечных библиотек в пробирку с 48 мкл денатурированных библиотек, перемешайте 3-х кратным вортиксированием. Общий объем составит 60,1 мкл.

9. Сбросить капли коротким центрифугированием.

10. Перенести пробирки в термоциклер и запустить следующую программу:

Температура	Время
Нагрев крышки	45°C/Выключен
37°C	30 минут
4°C	∞

11. После завершения программы незамедлительно перенести пробирки на лед для следующей реакции.

12. Смешать на льду следующие реагенты, пока идет реакция из п. 10

Компонент	Объем
Буфер для расщепления	1,4 мкл
Расщепляющий фермент	2,6 мкл
Общий объем	4 мкл

13. Внесите 4 мкл получившейся смеси в ПЦР-пробирки из п. 8. Провортексируйте 3 раза (3 сек каждую) и сбросьте капли кратким центрифугированием для сбора раствора на дне пробирок. Общий объем смеси составит 64,1 мкл.

14. Установить пробирки в термоциклер.

15. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение следующей программы:

Температура	Время
Нагрев крышки	45°C/Выключен
37°C	30 минут
4°C	∞

16. По завершению программы сбросьте капли с крышек пробирок кратким центрифугированием.

17. Добавьте 7,5 мкл Стоп-буфера. Провортексируйте 3 раза (3 секунды каждую) и сбросьте капли на дно пробирки кратким центрифугированием. Объем смеси составит 71,6 мкл. Перенесите весь раствор в чистые 1,5 мл пробирки.

18. Достаньте Частицы для очистки ДНК из холодильника и дайте прогреться до комнатной температуры в течение 30 минут. Провортексируйте тщательно до гомогенного состояния перед использованием.

19. Добавить 170 мкл Частиц для очистки ДНК к продукту реакции ферментативного расщепления из 17. Перемешать пипетированием не менее 10 раз или провортексировать до гомогенного состояния.

20. Инкубировать при комнатной температуре 10 мин.

21. Сбросить капли кратким центрифугированием, поместить пробирки на магнитный штатив. Инкубировать 2-5 минут или пока жидкость в пробирках не станет прозрачной. Аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы, и выбросить.

22. Добавить 500 мкл свежеприготовленного 80% спирта, не задевая частицы. Инкубировать 30 секунд. Аккуратно удалить и выбросить супернатант.

23. Повторить п. 22. Убедиться в том, что капли спирта полностью удалены из пробирок. При необходимости осадить кратковременным центрифугированием, поместить на магнитный штатив, инкубировать 30 секунд и удалить излишки спирта, не задевая магнитных частиц. Если частицы были задеты и попали в наконечник дозатора, вернуть объем в пробирку, повторить инкубацию и отобрать спирт заново. Просушить магнитные частицы на воздухе, не вынимая пробирку из магнитного штатива. Не допускайте потрескиваний на магнитных частицах.

24. Убрать 1,5 мл пробирки с магнитного штатива и добавить 32 мкл ТЕ буфера Ц для элюции библиотек. Перемешать 10-ти кратным пипетированием или вортексированием, пока частицы полностью не ресуспендируются.

25. Инкубировать 10 минут на столе.

26. Кратко центрифугировать для сбора капель и поместить пробирки обратно на магнитный штатив. Инкубировать 2-5 минут или пока жидкость не станет прозрачной. Перенести 30 мкл супернатанта в чистые 1,5 мл пробирки.

Важно! При необходимости пробирки можно хранить при температуре не выше - 20°C один месяц.

27. Концентрация циркуляризованной библиотеки должна быть ≥ 3 фемтомоль/мкл, а для каждой реакции по изготовлению наношара требуется 60 фемтомолей такой библиотеки.

28. Этапы подготовки библиотек к секвенированию и секвенирование проводятся при использовании системы «Секвенатор генетический HELICON®» (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023) производства ООО "Ухань ЭмДжиАй Тех Ко., Лтд."

Для подготовки библиотек к секвенированию ДНК и проведению секвенирования библиотек образцов на приборе Секвенатор генетический HELICON® G50 необходимо использовать соответствующие комплекты из состава наборов «Набор реагентов MGI G50 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» (РЗН 2023/21588 от 28.11.2023)⁵ и действовать согласно инструкции производителя.

Для подготовки библиотек к секвенированию ДНК и проведению секвенирования библиотек образцов на приборе Секвенатор генетический HELICON® G400 необходимо использовать соответствующие комплекты из состава наборов «Набор реагентов MGI G400 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» (РЗН 2023/21587 от 29.11.2023)⁶ и действовать согласно инструкции производителя.

29. После проведения секвенирования перейти к анализу библиотек согласно п.6.4.

30. Для секвенирования библиотек рекомендуется использовать парно-концевой режим секвенирования с прочтением 102 нуклеотидов для прямого и обратного рида, причем первые 2 цикла каждого рида должны быть «темными». Для настройки режима секвенирования следует руководствоваться разделом №7 Руководства по эксплуатации Секвенатора генетического HELICON® (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023).

6.4 Описание анализа данных и интерпретации результатов

В ходе секвенирования секвенатор автоматически распознает азотистые соединения, а также выполняет вывод необработанных данных секвенирования в виде файлов формата FASTQ по завершении секвенирования.

1. Анализ полученных на секвенаторе данных в виде файлов формата FASTQ осуществляется с помощью программного обеспечения от производителя набора реагентов ООО «ОНКОАТЛАС» «Solo AVES» <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023.

2. Файлы FASTQ, полученные в рамках анализа полученных на секвенаторе данных с помощью программного обеспечения от поставщика генетического секвенатора, могут быть проанализированы с помощью программного обеспечения от производителя набора реагентов ООО «ОНКОАТЛАС» «Solo AVES» <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023. Анализ файлов FASTQ с помощью программного обеспечения от поставщика набора реагентов осуществляется через веб-браузер (поддерживается веб-браузером Chrome™ версии 39) при наличии доступа в интернет со скоростью загрузки не менее 1Mbps и скоростью отдачи не менее 10Mbps. Для начала работы с программным

⁵ Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»:
Набор реагентов G50 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G50 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G50 SM FCS PE100 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G50 SM FCS PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

⁶ Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»:
Набор реагентов G400 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G400 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

обеспечением от поставщика необходимо перейти по ссылке <https://aves.oncoatlas.ru/> и выполнить вход в систему по паре логин/пароль, полученной от производителя набора реагентов, после чего нажать кнопку "Войти".



Рисунок 2. Вход в программное обеспечение Solo AVES

В течение не более полугода после получения наборов реагентов пара логин/пароль, в случае если не предоставлялась пользователю ранее, предоставляется производителем набора реагентов в срок не более 7 рабочих дней после запроса пользователя электронным путем (электронная почта, запрос направляется на почту it-solo@oncoatlas.ru). Для верификации полученной пары логин/пароль следует перейти по ссылке <https://aves.oncoatlas.ru/>. При переходе открывается стартовая страница авторизации в личном кабинете пользователя, где необходимо ввести логин и пароль в соответствующих полях, затем нажать кнопку "Войти". При корректной авторизации осуществляется переход в личный кабинет пользователя. Необходимо убедиться, что на главной странице личного кабинета есть кнопка "Запустить анализ данных" и вкладки "Образцы", "Анализ данных". В случае отсутствия данных элементов следует обновить страницу нажатием комбинации клавиш Ctrl+F5. При неуспешной попытке необходимо связаться с производителем набора реагентов по электронной почте it-solo@oncoatlas.ru.

3. Создание заявки на анализ данных.

Шаг 1. Перейти в раздел "Запустить анализ данных"



Рисунок 3. Экран запуска анализа данных

Шаг 2. Откроется окно создания заявки на анализ данных. В рамках одной заявки на анализ данных можно проанализировать любое количество образцов, которые секвенировались в рамках одного запуска прибора. Для создания заявки на анализ данных необходимо: 1. Ввести информацию о запуске; 2. Добавить данные секвенирования; 3. Ввести информацию об образцах, которые соответствуют добавленным данным секвенирования.

Важно: крайне не рекомендуется в рамках одной заявки на анализ данных анализировать данные секвенирования с разных запусков одного или нескольких секвенаторов. Крайне рекомендуется в рамках одной заявки на анализ данных анализировать все данные, которые были получены в рамках одного запуска прибора с помощью наборов реагентов от ООО “ОНКОАТЛАС”; создание отдельных заявок на анализ данных на каждый отдельный образец не рекомендовано.

В новом окне заполнить дату секвенирования и выбрать из выпадающего окна платформу секвенирования.

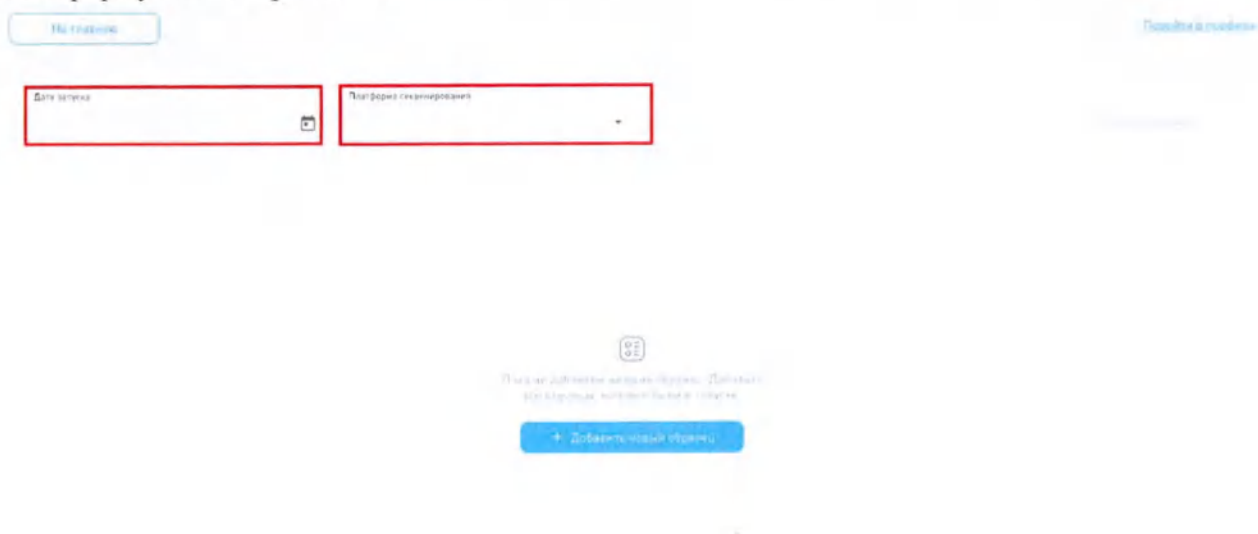


Рисунок 4. Заполнение информации о дате запуска и платформе секвенирования

Шаг 3. С помощью кнопки “Добавить новый образец” добавьте данные секвенирования

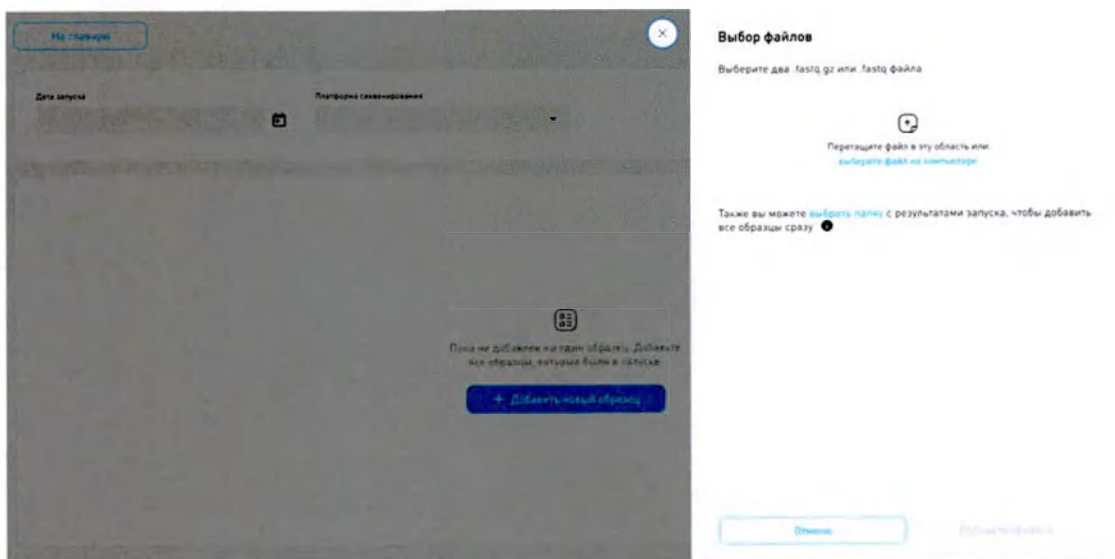


Рисунок 5. Окно добавления данных секвенирования

3.1 Возможно добавление отдельного образца. Для этого необходимо выбрать два .fastq файла с компьютера и нажать "Добавить образец"

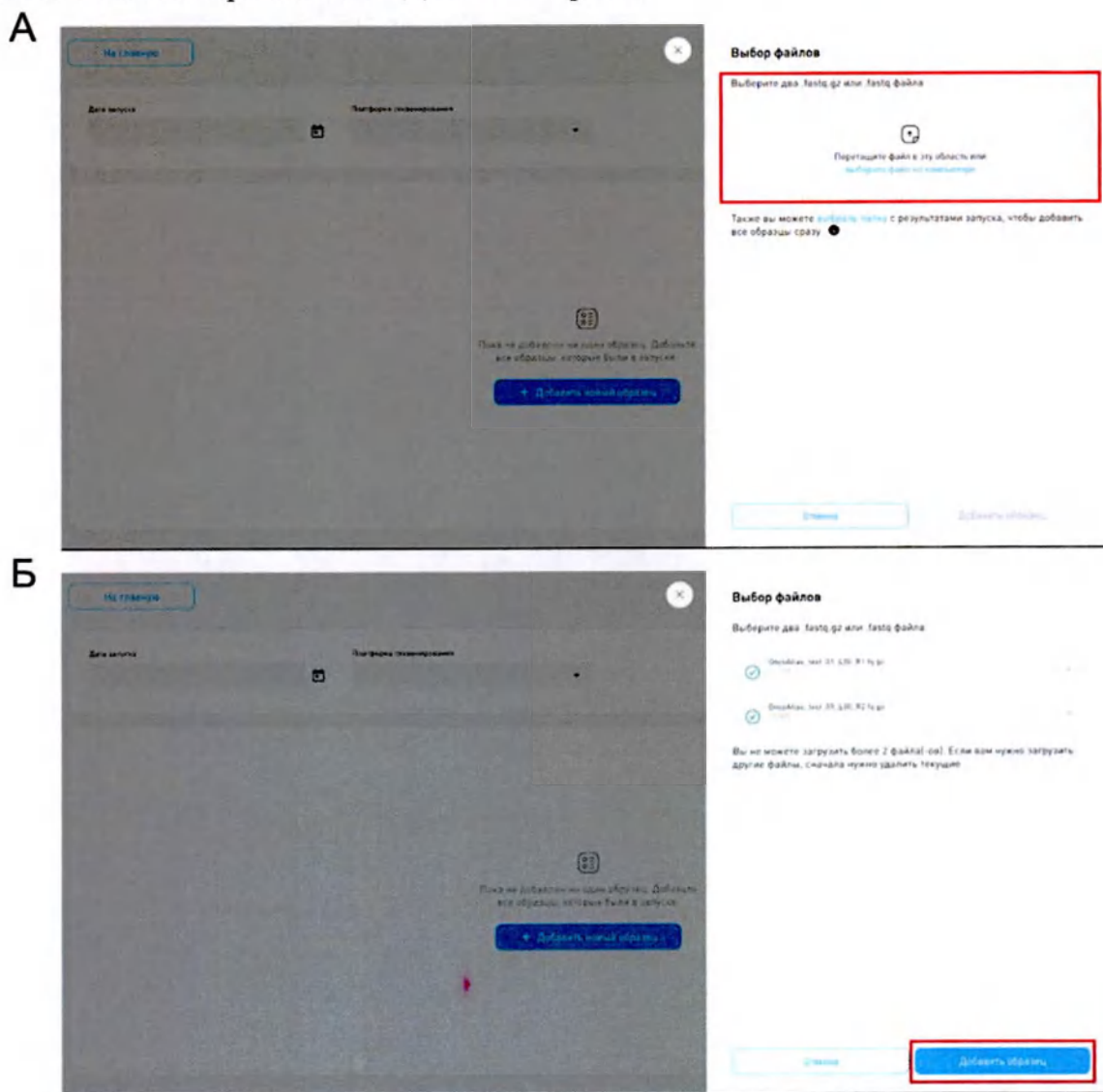


Рисунок 6. Добавление данных секвенирования одного образца. Красной рамкой выделены: А – область добавления .fastq файлов, Б – кнопка «Добавить образец»

A



Если после выбора папки не было обнаружено данных секвенирования, необходимо перейти к шагу (3.1) и добавить каждый образец отдельно.

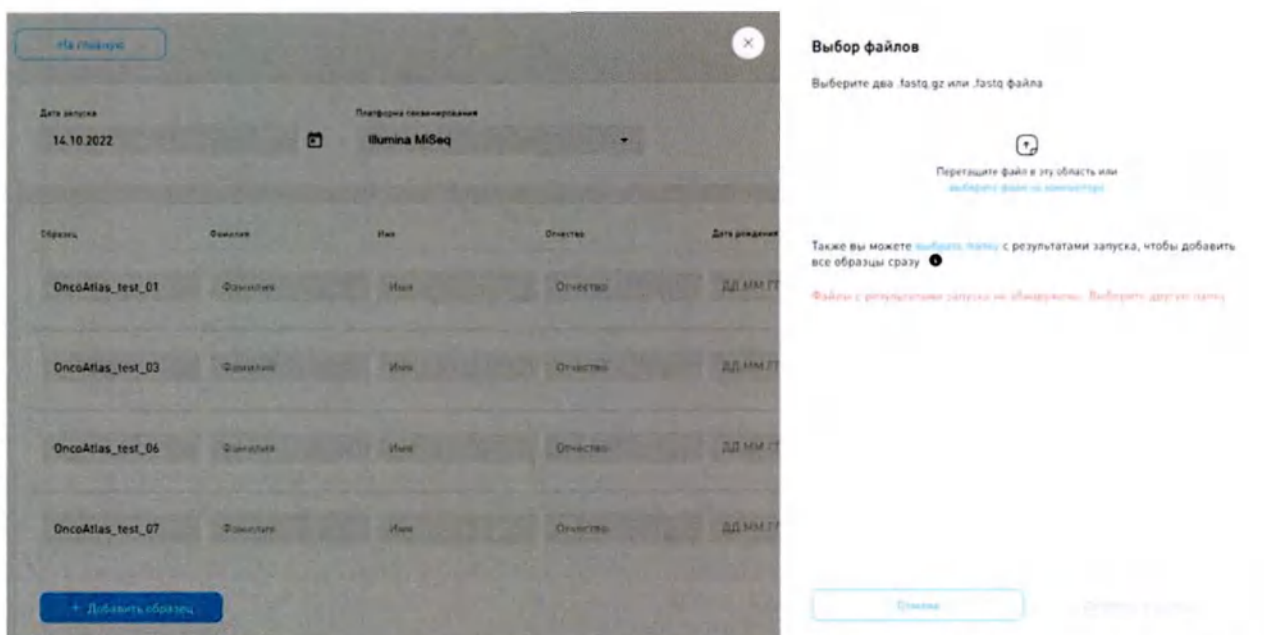


Рисунок 8. Возможное предупреждение о неудачной попытке добавления данных секвенирования всех образцов запуска

4. После шага 3 добавить дополнительные образцы, которые секвенировались в рамках одного запуска секвенатора, можно с помощью кнопки "Добавить образец". Рекомендуется в рамках одной заявки на анализ данных добавить все образцы, которые были в запуске, и которые секвенировались с помощью набора реагентов от компании ООО "ОНКОАТЛАС". В рамках одной заявки на анализ данных нельзя добавлять данные секвенирования с разных запусков одного прибора или разных приборов.

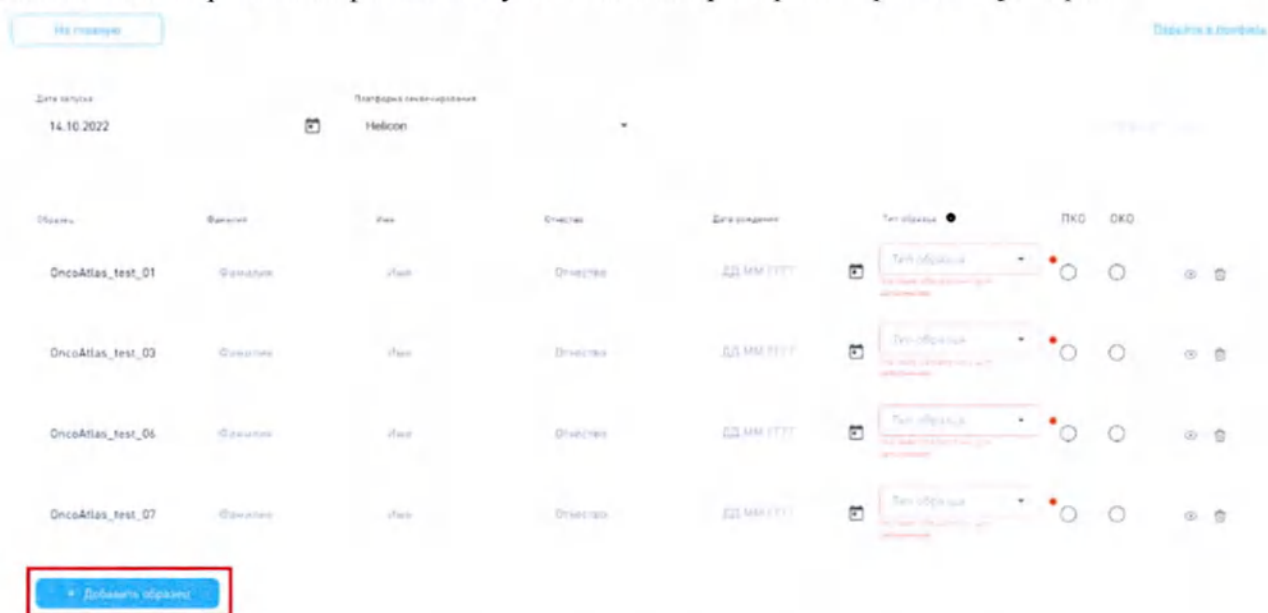


Рисунок 9. Добавление данных секвенирования дополнительных образцов

Шаг 5. Для каждого добавленного образца необходимо указать тип анализа (колонка "Тип образца"):

- FFPE: ДНК, выделенная из FFPE материала
- WB: ДНК, выделенная из цельной крови (геномная ДНК)

- PLASMA: ДНК, выделенная из плазмы/сыворотки крови (свободно-циркулирующая ДНК)

The screenshot shows the 'Solo AVES' web application interface. At the top, there are buttons for 'На главную' (Home) and 'Перейти в профиль' (Go to profile). Below these, there are fields for 'Дата отбора' (Date of collection) set to '14.10.2022' and 'Платформа секвенирования' (Sequencing platform) set to 'Helicon'. A 'Запустить анализ' (Start analysis) button is on the right. The main part of the interface is a table with columns: Образец (Sample), Фамилия (Surname), Имя (Name), Отчество (Patronymic), Дата рождения (Date of birth), Тип образца (Sample type), Заболевание (Disease), ПКО (PKO), and ОКД (OKD). The table contains five rows: Sample1 (Астахов Константин Константинович, 19/03/1990, PLASMA, C22.1,C23-24), Sample2 (Симоненко Виталий Сергеевич, 02/05/1981, FFPE, C22.1,C23-24), Sample3 (Карцман Анастасия Витальевна, 03/02/1983, FFPE, C22.1,C23-24), OncoAtlas_test (Фамилия Имя Отчество, dd.mm.yy, No selected, C22.1,C23-24), and Sample4 (Фамилия Имя Отчество, dd.mm.yy, No selected, C22.1,C23-24). At the bottom left, there is a '+ Добавить образец' (Add sample) button.

Рисунок 10. Указание данных для каждого добавленного образца

Также для каждого образца рекомендовано (не обязательно) указать заболевание пациента (колонка “Заболевание”) – информация о заболевании используется в дальнейшем для интерпретации результатов анализа данных и генерации отчета.

Указание Фамилии, Имени, Отчества и Даты рождения не обязательно, но рекомендовано. Эта информация используется для: 1) генерации отчета 2) автоматического соотнесения данных секвенирования от одного пациента (в случае, если от одного пациента в рамках одного или нескольких запусков было проанализировано больше одного образца) 3) связи с ЛК врача и бесшовной отправкой отчета о секвенировании направляющему врачу.

Информацию о заболевании, ФИО, дате рождения пациента также можно указать после завершения анализа по заявке на анализ данных.

В колонке “ПКО” необходимо указать образец, который использовался как контрольный образец (КО). В рамках одной заявки на анализ данных может быть использован только один КО. Наличие КО не является обязательным для завершения заявки на анализ данных.

Важно! Программное обеспечение “Solo AVES” позволяет анализировать данные, полученные с помощью тест-наборов, производителем которых является ООО “ОНКОАТЛАС”. ПО “Solo AVES” не предназначено для анализа данных, полученных с помощью наборов реагентов от других производителей. Конкретный набор реагентов, который использовался для секвенирования, определяется в ходе анализа данных.

С помощью иконки “корзина” можно удалить образец из таблицы, если он был добавлен ошибочно. Удаленный образец можно добавить обратно с помощью шага (3.1). С помощью иконки “глаз” можно исключить образец из анализа, не удаляя его из таблицы – этот образец не будет включен в заявку на анализ данных.

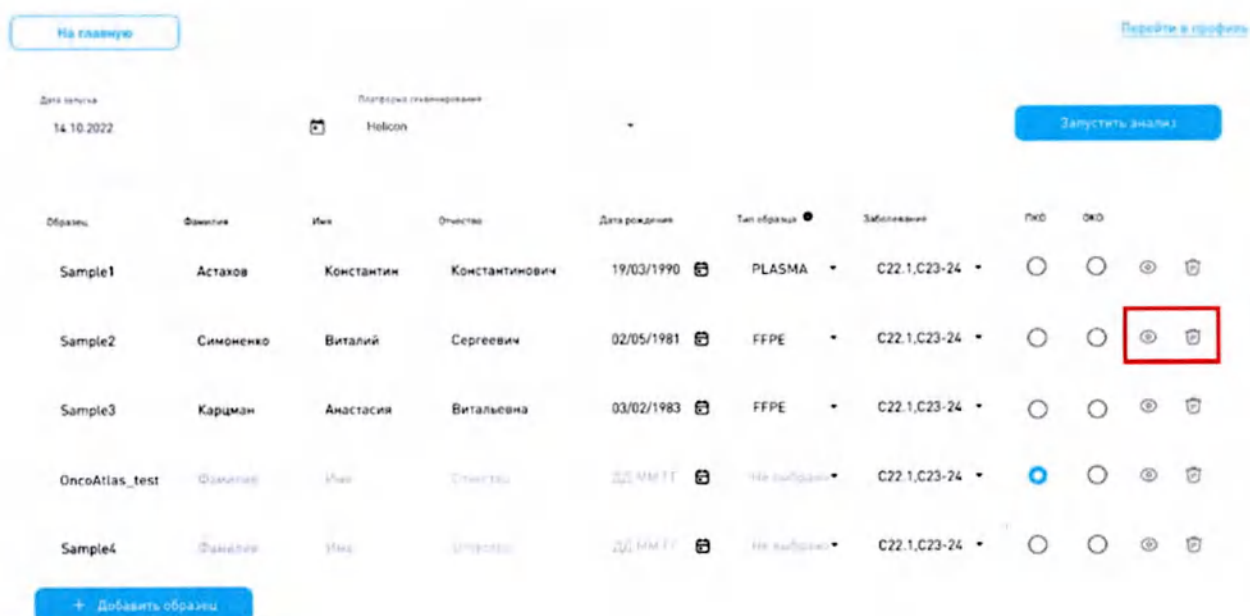


Рисунок 11. Удаление и исключение образца из анализа данных

Шаг 6. После завершения ввода информации запуск анализа осуществляется с помощью кнопки “Запустить анализ”

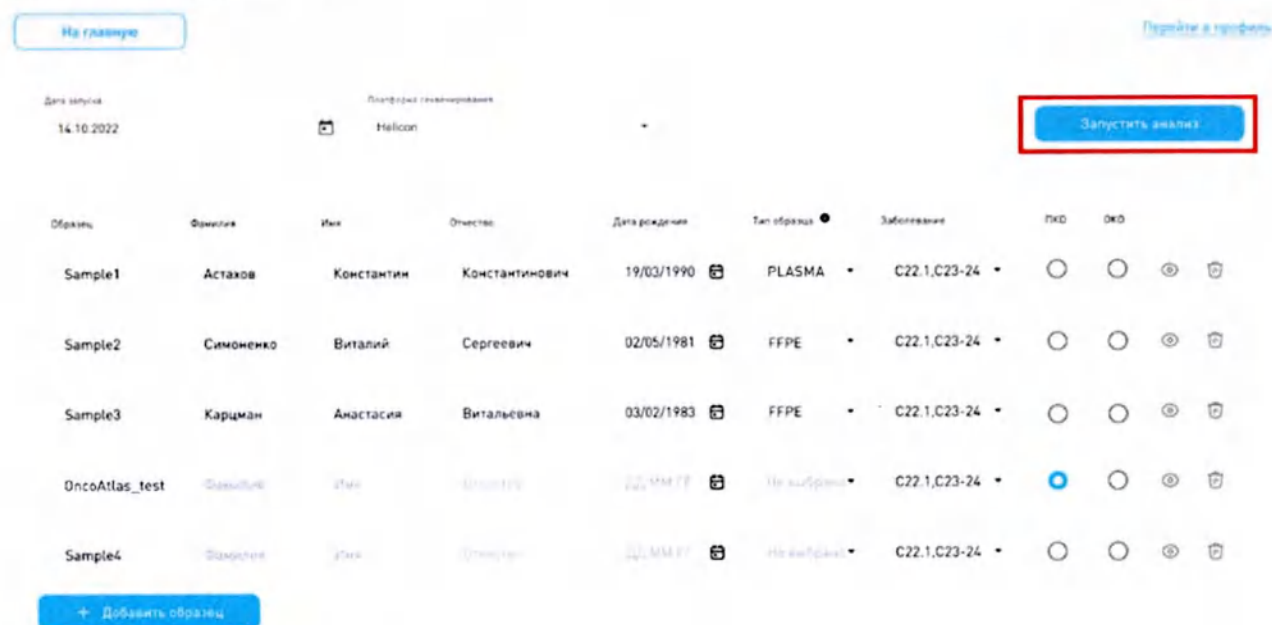


Рисунок 12. Запуск анализа данных

Шаг 7. После создания заявки на анализ данных, её статус можно посмотреть на главной странице на вкладке “Анализ данных”.

[+ Запустить анализ данных](#) [Перейти к результатам](#)

Заявки на тестирование Образцы **Анализ данных**

Дата запуска анализа	Дата секвенирования	Платформа	Статус	Всего образцов	Пропуск QC	Версия платформы	
25.04.2023	25.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	6	6	2.12	
21.04.2023	21.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	1	0	2.12	
18.04.2023	18.04.2023	GeneMind GenoLab M	В очереди на анализ	4	4	2.12	
29.03.2023	29.03.2023	BGI DNBSEQ (MGISEQ)	Ошибка	3	3	2.12	
29.03.2023	03.03.2023	BGI DNBSEQ (MGISEQ)	Ошибка	1	1	2.12	
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	⋮
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	⋮
06.03.2023	06.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	⋮
06.03.2023	06.03.2023	Illumina MiSeq	Анализ завершен	46	46	2.12	⋮

1-30 из 44 [Данные](#) [Платформа](#) [Статус](#)

30 результатов на страницу

Рисунок 13. Актуализация статуса заявки на анализ данных

Статус заявки указан в колонке “Статус”. После окончания анализа данных, заявка перейдет в статус “Анализ завершен”, который будет отображен в колонке статуса.

4. Просмотр результатов анализа.

После завершения анализа данных результаты можно скачать на вкладке “Анализ данных” в виде таблицы .xlsx, либо в формате .pdf.

[+ Запустить анализ данных](#) [Перейти к результатам](#)

Заявки на тестирование Образцы **Анализ данных**

Дата запуска анализа	Дата секвенирования	Платформа	Статус	Всего образцов	Пропуск QC	Версия платформы	
25.04.2023	25.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	6	6	2.12	
21.04.2023	21.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	1	0	2.12	
18.04.2023	18.04.2023	GeneMind GenoLab M	В очереди на анализ	4	4	2.12	
29.03.2023	29.03.2023	BGI DNBSEQ (MGISEQ)	Ошибка	3	3	2.12	
29.03.2023	03.03.2023	BGI DNBSEQ (MGISEQ)	Ошибка	1	1	2.12	
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	⋮
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	⋮
06.03.2023	06.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	⋮
06.03.2023	06.03.2023	Illumina MiSeq	Анализ завершен	46	46	2.12	⋮

1-30 из 44 [Данные](#) [Платформа](#) [Статус](#)

30 результатов на страницу

⬇ Скачать все отчеты

⬇ Скачать таблицу с результатами

Рисунок 14. Выгрузка данных после анализа

Таблица с результатами скачивается в формате .xlsx. В книге EXCEL присутствуют листы: “QC” и “result”. На листе “QC” отражены результаты анализа качества данных. В столбце “RESULT” указывается итоговый результат:

- PASS – образец прошел контроль качества данных

- **FAIL*** – образец не прошел контроль качества данных

Также на листе QC отражены контрольные метрики анализа качества данных:

- **TotalReads** – общее количество чтений
- **ReadsPool1** – количество чтений в пуле 1 (для двухпульных панелей)
- **ReadsPool2** – количество чтений в пуле 2 (для двухпульных панелей)
- **Q30** – количество н.п. с качеством прочтения выше Q30
- **OnTargetFraction** – количество прочтений, картируемых на целевые области генома
- **Uniformity** – равномерность покрытия (процент целевых регионов с покрытием 0.2 и выше от среднего покрытия целевого региона)
- **SensGermlineAC** – интегральная расчетная чувствительность детектирования известных клинически-значимых (патогенных) наследственных мутаций-основателя (если панель их покрывает) (в соответствии с [Ivanov et al., 2019])
- **SensGermlineHP** – интегральная расчетная чувствительность детектирования известных распространенных наследственных генетических вариантов, которые могут быть ассоциированы с чувствительностью к терапии / повышенными рисками онкологических заболеваний (в соответствии с [Ivanov et al., 2019]).
- **SensSomaticAC** – интегральная расчетная чувствительность детектирования известных клинически-значимых соматических мутаций (в соответствии с [Ivanov et al., 2019])
- **SensSomaticHP** – интегральная расчетная чувствительность детектирования соматических мутаций в известных рекуррентных позициях соматического мутагенеза (хотспоты) (в соответствии с [Ivanov et al., 2019])
- **Coverage** – среднее покрытие целевого региона
- **EvennessScore** – равномерность покрытия (в соответствии с [Konrad Oexle, 2016])
- **MAPD** – равномерность покрытия (медиана абсолютных парных отклонений покрытия соседних ампликонов)
- **CoveragePool1** - среднее покрытие целевого региона пула 1 (для двухпульных панелей)
- **EvennessScorePool1** - равномерность покрытия пула 1 (в соответствии с [Konrad Oexle, 2016])
- **MAPDPool1** - равномерность покрытия пула 1 (медиана абсолютных парных отклонений покрытия соседних ампликонов) (для двухпульных панелей)

* - в случае, если образец не прошел контроль качества данных, а КО образец в запуске прошел контроль качества, рекомендуется повторить исследование на другом биологическом материале этого же пациента.

- CoveragePool2 - среднее покрытие целевого региона пула 2 (для двухпульных панелей)
- EvennessScorePool2 - равномерность покрытия пула 2 (в соответствии с [Konrad Oexle, 2016]) (для двухпульных панелей)
- MAPDPool2 - равномерность покрытия пула 2 (медиана абсолютных парных отклонений покрытия соседних ампликонов) (для двухпульных панелей)

Файл		Главная	Вставка	Разметка страницы	Формулы	Данные	Рецензирование	Вид	Справка													
A1																						
SampleID																						
1	SampleID	SampleName	Specimen	Panel	Result	TotalRead	ReadDepth	ReadDepthOnTarget	Uniformity	Sensitivity	SensitivitySemiauto	SensitivitySemiautoCoverage	EvennessScorePool2	MAPDPool2	Coverage	EvennessScorePool2	MAPDPool2	Coverage	EvennessScorePool2	MAPDPool2	Coverage	
2	18711-01-01	OncoAtlas WB	ADAMC01	FAIL	11476	2388	28703	0.98	0.57	0.91	0.84	NA	NA	57	0.4151114	1.917	79	0.4249206	1.812	76	0.4082014	1.205
3	18711-01-01	OncoAtlas WB	ADAMC01	PASS	101362	188818	193070	0.97	0.99	1.00	1.00	NA	NA	710	0.8540455	0.902	701	0.8502949	0.907	745	0.8428101	0.263
4	17011-01-01	OncoAtlas WB	ADAMC01	FAIL	541	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
5	18951-01-01	OncoAtlas WB	ADAMC01	PASS	101362	188818	193070	0.97	0.99	1.00	1.00	NA	NA	710	0.8540455	0.902	701	0.8502949	0.907	745	0.8428101	0.263
6	18951-01-01	OncoAtlas WB	ADAMC01	PASS	101362	188818	193070	0.97	0.99	1.00	1.00	NA	NA	710	0.8540455	0.902	701	0.8502949	0.907	745	0.8428101	0.263
7	18951-01-01	OncoAtlas WB	ADAMC01	PASS	101362	188818	193070	0.97	0.99	1.00	1.00	NA	NA	710	0.8540455	0.902	701	0.8502949	0.907	745	0.8428101	0.263
8	18951-01-01	OncoAtlas WB	ADAMC01	PASS	101362	188818	193070	0.97	0.99	1.00	1.00	NA	NA	710	0.8540455	0.902	701	0.8502949	0.907	745	0.8428101	0.263
9	18951-01-01	OncoAtlas WB	ADAMC01	PASS	101362	188818	193070	0.97	0.99	1.00	1.00	NA	NA	710	0.8540455	0.902	701	0.8502949	0.907	745	0.8428101	0.263
10	18951-01-01	OncoAtlas WB	ADAMC01	PASS	101362	188818	193070	0.97	0.99	1.00	1.00	NA	NA	710	0.8540455	0.902	701	0.8502949	0.907	745	0.8428101	0.263

Рисунок 15. Пример таблицы с результатами (лист "QC")

Важно: для образцов, которые не проходят контроль качества данных, последующий анализ данных (включая детектирование молекулярных альтераций и интерпретация результатов) не проводится.

На листе "result" книги EXCEL приводятся результаты детектирования молекулярных альтераций. Приводятся все типы обнаруженных альтераций, включая: SNV, MNV, indel, CNV, MSI (в зависимости от назначения набора реагентов). Указываемые технические характеристики детектирования молекулярных альтераций включают: AD (количество чтений альтернативного аллеля – только для SNV/MNV/indel), DP (общее покрытие сайта варианта – только для SNV/MNV/indel/CNV), VAF (частота альтернативного аллеля после коррекции – только для SNV/MNV/indel), CN (количество копий гена – только для CNV). На листе "result" приводятся только клинически значимые варианты (в соответствии с назначением набора реагентов, а также в соответствии с клиническими рекомендациями Министерства Здравоохранения РФ).

SampleID	SampleName	Gene	Significant Origin	AD	DP	AF	Consequence	HGVSg	HGVSg	HGVSg	Transcript	dbSNP	COSMIC	GNOMAD	TOPMED	ExAC	SpliceAI	CADD	PROVEAN	SIFT	MutPred	MetaR
1	58951-01-01	OncoAtlas CDK12	d damaging germline	96	1293	0.118	stop_gain	chr17:376-c.1952C>G	p.Ser651T	ENST00000447079	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	58951-01-01	OncoAtlas CDK12	d damaging germline	84	1084	0.4491	frameshift	chr17:376-c.2309_23	p.Trp770S	ENST00000447079	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	58951-01-01	OncoAtlas CDK12	d damaging germline	574	652	0.7187	splice_donor	chr22:291-c.573+1G>-	-	ENST0000041219086	COSV6042	0.0001	6.37E-05	0.000107	D	N	-	-	-	-	-	-
4	20121-01-01	OncoAtlas BRCA1	d damaging germline	276	635	0.4271	stop_gain	chr17:412-c.4752C>G	p.Tyr1584	ENST0000048035743	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	62293-01-01	OncoAtlas PALB2	d damaging germline	577	700	0.5294	frameshift	chr16:236-c.1958_19	p.Cys651T	ENST00000261584	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Рисунок 16. Пример таблицы с результатами (лист "result")

Отчеты по каждому образцу можно скачать с помощью кнопки "скачать все отчеты". В каждом отчете есть разделы: 1. Заключение; 2. Приложение. В разделе "Заключение" есть подразделы "Сводная Информация"; "Результат" (Положительный результат означает обнаружение одной или более молекулярной альтерации, которая является клинически значимой в соответствии с назначением набора реагентов, а также клиническими рекомендациями Министерства Здравоохранения РФ); "Статус микросателлитной нестабильности" (приводится только если обнаружение микросателлитной нестабильности входит в назначение набора реагентов (см. раздел «Назначение и описание»)); "Обнаруженные генетические варианты" – указываются только клинически значимые генетические варианты в соответствии с назначением набора реагентов, а также клиническими рекомендациями Министерства

Здравоохранения РФ (указываются как маркеры чувствительности к терапии, так и патогенные генетические варианты, ассоциированные с развитием наследственного онкологического синдрома; в разделе указываются следующие типы молекулярных альтераций: SNV/MNV/indel/CNV); "Интерпретация результата" (приводятся наименования МНН препаратов в соответствии с обнаруженными предиктивными маркерами); "Качество данных". В разделе "Приложение" указываются все обнаруженные молекулярные альтерации, которые не являются клинически значимыми в соответствии с назначением набора реагентов, а также клиническими рекомендациями Министерства Здравоохранения РФ, что включает: значимые риск-факторы развития онкологических заболеваний; фармакогенетические маркеры; драйверные соматические варианты.

Настройки генерации отчета доступны в профиле пользователя:



Дата запуска анализа	Дата секвенирования	Платформа	Статус	Всего образцов	Результат QC	Всего паттернов
25.04.2023	25.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	6	6	2.12
21.04.2023	21.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	1	0	2.12
18.04.2023	18.04.2023	GeneMind GenoLab M	В очереди на анализ	4	4	2.12
29.03.2023	29.03.2023	BGI DNBSSEQ (MGISEQ)	Ошибка	3	3	2.12
29.03.2023	03.03.2023	BGI DNBSSEQ (MGISEQ)	Ошибка	1	1	2.12
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.1
06.03.2023	06.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12
06.03.2023	06.03.2023	Illumina MiSeq	Анализ завершен	46	46	2.12

1-30 из 44 данных + 100% загрузка

30 результатов на странице

Рисунок 17. Переход в профиль пользователя для настройки генерации отчета

5. Просмотр результатов анализа отдельного образца

Список проанализированных образцов доступен на вкладке "Образцы" главной страницы:

Новый анализ

Аналитика

Перейти в профиль

Заявки на секвенирование

Образцы

Анализы

Архив образцов

Введите ФИО, панель, дату секвенирования или результат анализа

Q

выгрузить данные в виде таблицы

Образец	Панель	Контроль качества	Результат	Дата секвенирования	Версия пайплайна	
Sample_01 [UID: 57185-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3	👁️ 📄 🗑️
S3 [UID: 98314-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC	Не пройден	N/A	2022-04-15	2.1.3	👁️ 📄 🗑️
AOD_4 [UID: 16750-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	Atlas+	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3	👁️ 📄 🗑️
AOD_5 [UID: 59813-01-02] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	Atlas+	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3	👁️ 📄 🗑️
AOD_6 [UID: 59834-02-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC+	Не пройден	N/A	2022-04-15	2.1.3	👁️ 📄 🗑️

Рисунок 18. Вид списка проанализированных образцов

Скачать отчет в формате .pdf по отдельному образцу можно с помощью иконки “книга”. Для перемещения образца в архив необходимо нажать иконку “корзина” (при переходе в архив образцов можно либо восстановить образец из архива, либо удалить его окончательно). Для детального просмотра и редактирования результатов анализа по образцу необходимо нажать иконку “глаз”.

Новый анализ

Аналитика

Перейти в профиль

Заявки на секвенирование

Образцы

Анализы

Архив образцов

Введите ФИО, панель, дату секвенирования или результат анализа

Q

выгрузить данные в виде таблицы

Образец	Панель	Контроль качества	Результат	Дата секвенирования	Версия пайплайна	
Sample_01 [UID: 57185-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3	👁️ 📄 🗑️
S3 [UID: 98314-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC	Не пройден	N/A	2022-04-15	2.1.3	👁️ 📄 🗑️
AOD_4 [UID: 16750-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	Atlas+	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3	👁️ 📄 🗑️
AOD_5 [UID: 59813-01-02] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	Atlas+	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3	👁️ 📄 🗑️
AOD_6 [UID: 59834-02-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC+	Не пройден	N/A	2022-04-15	2.1.3	👁️ 📄 🗑️

Рисунок 19. Возможные опции работы с результатом анализа отдельного образца: “книга” - скачать отчет в формате .pdf, “корзина” - перемещение образца в архив, “глаз” - детальный просмотр и редактирование результата анализа

Детальный просмотр результатов анализа образца позволяет редактировать результаты детектирования генетических вариантов, интерпретацию результатов, скачать результаты в формате .bam, просмотреть результаты в Genome Browser, а также

[Обратно к списку результатов](#)
[Перейти в профиль](#)

Контроль качества пройден

[Метод контроля данных](#) | [Методы оценки качества](#) | [Справка QoF](#)

☒ SNV/indel
☒ CNV
☒ соматические
☒ наследственные
☐ клинически значимые
☐ артефакты

[Настроить выборку Mutation](#) | [Введите теги или варианты](#) 🔍

Панель: Solo Atlas+

Секвенирование на Illumina NextSeq, 2022-04-14

Значимость	Ген	MAF	VAF/CN	PVAL
Gof/O/L1	BRAF с/г T A G C A T T G g T G / микросателлитный ENS100000288402 p.Val600Gly ENS100000288402 c.179T>A	3.9e-6%	34%	2636
L1	Микросателлитная нестабильность 2605			
Lof/FD	TP53 соматический с/г TT T G T G T G G C T g T T / forward ENS100000249305 p.Ser106IlefsTer43 ENS100000249305 c.314dup	0	10%	3234
Lof/FD	PTEN соматический с/г TG GTGATGGCCTGT g T T / forward ENS100000371953 p.Leu539PhefsTer6 ENS100000371953 c.170dup	0	13%	6358
Lof/FD	PTEN соматический с/г TG GTGATTCACCA g T T / forward ENS100000371953 p.Pro130TrpfsTer4 ENS100000371953 c.386dup	0	14%	3575

Sample_01
 Карцаев Анна Олеговна, Ж, 1993-01-15
 Тип образца: FFPE
 Заболевание: Колоректальный рак
 Дата исследования: 2022-04-14
 Источник биоматериала: кровь
 Диагноз: C20 Рак прямой кишки, умеренно-дифференцированная аденокарцинома T4aN0M0, IIb стадия

[Редиректовать](#)
[Генерация отчета](#)
[Оформить заявку](#)

Продуктивный маркер M3 (F0 L1)
 Природа варианта: соматический
 Эффект варианта: активирующий (GoF)
 VAF - 34% IAD - 3408, DP - 100211, Частота в моле образцов - 1% (10 / 1021)

Длительный вариант ID
 с/г T A G C A T T G g T G / микросателлитный
 ENS100000288402 p.Val600Gly
 ENS100000288402 c.179T>A

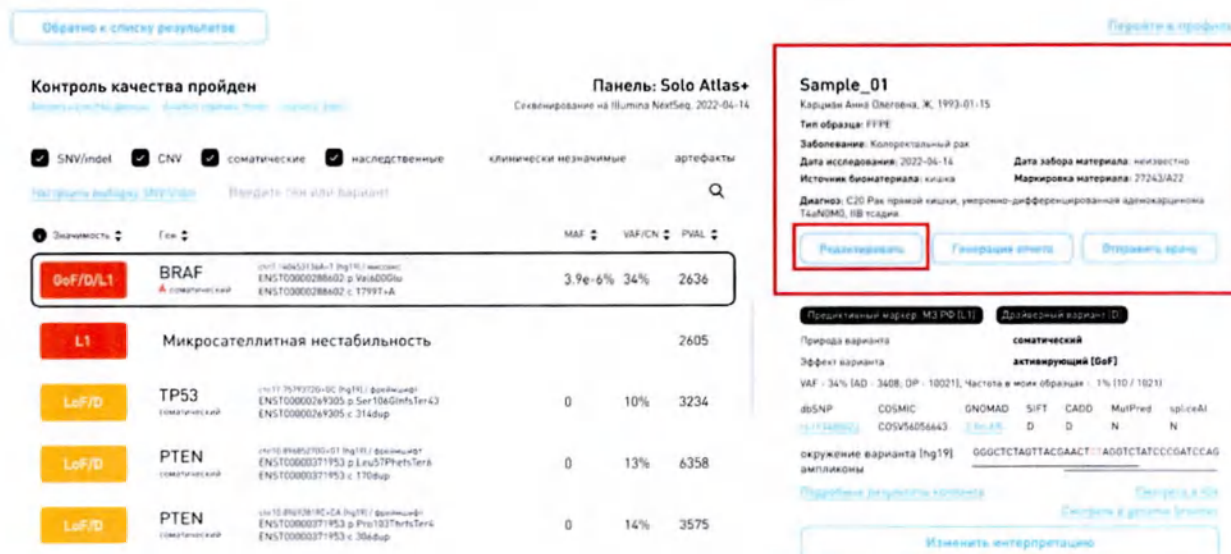
dbSNP COSMIC GNOMAD SIFT CADD MutPred spliceAI
 rs121468113 COSV56056443 0.9e-16 D D N N

окруженные варианты (hg19) GGCGCTAGTAGCAACT...AGTGCTATCCCATGCCAG
 ампликоны

[Подобрать референтную последовательность](#)
[Загрузить в IGV](#)

[Изменить интерпретацию](#)

Редактирование информации по образцу/пациенту доступно в правой верхней панели с помощью кнопки "Редактировать". В открывшемся окне необходимо обновить информацию и нажать кнопку "Сохранить". Введенные данные будут отображены в отчете после его новой генерации.



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

Обратиться к списку результатов

Контроль качества пройден

Анализ качества данных

Контроль качества данных

Показать артефакты

Показать нейтральные варианты

Настроить отображение вариантов

Введите термин для поиска

Значимость

Р-value

MAF

MAF

BRCA1	chr17:41,000,000-41,000,000 ENSG00000287633.5 ENST00000287633.5	150	34%	0.003%
N/A	BRCA1	310	12%	0.31%
ATM	chr2:11,000,000-11,000,000 ENSG00000223223.5 ENST00000223223.5	150	54%	12%
BRCA1	chr17:41,000,000-41,000,000 ENSG00000287633.5 ENST00000287633.5	12	9%	N/A

Информация об образце/пациенте

Основная информация

Фамилия

Ковальский

Имя

Пол

Мужской

Женский

Отчество

Дата рождения

14/03/1988

Информация о биологическом образце

Тип биологического образца

Дата забора материала (год, число)

Кровь

2023

Место (орган) забора материала

Дата забора материала (месяц, число)

Ковальский

1

Маркировка материала

Дата забора материала (год, число)

2023/58276 - M1

31

Рисунок 22. Окно изменения информации об образце или пациенте

В основной таблице приведены все обнаруженные молекулярные альтерации, включая SNV/MNV/indel/CNV/MSI (типы детектируемых молекулярных альтераций могут зависеть от назначения набора реагентов). В колонке "значимость" приведена клиническая и биологическая значимость каждой молекулярной альтерации:

- [L1]: молекулярная альтерация является предиктивным маркером в соответствии с клиническими рекомендациями Министерства Здравоохранения РФ
- [P]: генетический вариант ассоциирован с наследственным опухолевым синдромом
- [L2]: молекулярная альтерация является предиктивным маркером, который не входит в клинические рекомендации Министерства Здравоохранения РФ, но входит в международные рекомендации NCCN/ESMO/ASCO или имеет значимость I-III уровня в соответствии с системой уровней доказательности ESCAT
- [PgX]: генетический вариант ассоциирован с токсичностью противоопухолевой терапии или незначимым снижением её эффективности (фармакогенетический маркер)
- [R]: генетический вариант не ассоциирован с развитием наследственного опухолевого синдрома, но приводит к статистически-значимому повышению риска онкологических заболеваний (риск-фактор)
- [D]: молекулярная альтерация потенциально является (или может являться) драйверным событием в канцерогенезе (относится к повреждающим вариантам в генах опухолевой супрессии или активирующим вариантам в онкогенах)
- [GoF]: молекулярная альтерация приводит к значительному повышению активности продукта гена (активирующий вариант / gain of function).
- [LoF]: молекулярная альтерация приводит к значительному снижению активности продукта гена (повреждающий вариант / loss of function).

- [N]: молекулярная альтерация не приводит к изменению активности продукта гена

В колонке "Ген" также указывается потенциальная природа молекулярной альтерации (наследственный/соматический). Определение природы молекулярной альтерации осуществляется в случае, если анализом является ДНК, выделенная из биологического материала, в котором могут обнаруживаться соматические варианты (FFPE/PLASMA). Анализ проводится с помощью методов машинного обучения на основании нескольких параметров, среди которых:

- Наличие варианта в базах данных наследственных генетических вариантов и соматических мутаций, а также популяционная частота генетического варианта в случае, если ранее он уже был обнаружен в рамках крупных геномных проектов
- Частота обнаружения варианта в образцах FFPE и цельной крови по аккаунту
- Частота альтернативного аллеля конкретного варианта в чтениях, покрывающих сайт варианта
- Частота альтернативного аллеля близлежащих полиморфизмов
- Вероятность полной делеции гена (LoH) в части опухолевых клеток
- Вероятность происхождения конкретной нуклеотидной замены в соматическом или наследственном статусе
- Априорная вероятность обнаружения соматического или наследственного повреждающего (или активирующего) варианта в конкретном генетических
- Частота альтернативного аллеля прочих достоверно соматических и достоверно наследственных генетических вариантов в опухолевом образце

В случае, если по результатам биоинформатического анализа вариант с вероятностью 95% и более является наследственным, то в результатах анализа будет отмечено, что вариант является наследственным. В случае, если по результатам биоинформатического анализа вариант с вероятностью 95% и более является соматическим, то в результатах анализа будет отмечено, что вариант является соматическим. В остальных случаях в результатах анализа будет отмечено, что наследственную/соматическую природу варианта достоверно определить нельзя.

В случае, если для пациента ранее уже были получены данные секвенирования крови, автоматически проводится сопоставление обнаруженных ранее в крови генетических вариантов и природа варианта определяется достоверно на основании сравнения с нормальной тканью. Достоверность определения природы варианта отображается в генерируемом отчете формата .pdf

Наличие иконки "огонь" рядом с природой варианта в колонке "Ген" означает, что вариант является мутацией основателя (для наследственных вариантов) или располагается в позиции рекуррентного соматического мутагенеза / хотспот вариант (для соматических вариантов).

Обратно к списку результатов

Панель: Solo Atlas+

Контроль качества пройден

Секвенирование на Illumina NextSeq, 2022-04-14

SNV/indel CNV соматические наследственные клинически незначимые артефакты

Настроить выборку SNV/indel Введите ген или вариант

Значимость	Ген	MAF	VAF/CN	PVAL
GoF/D/L1	BRAF сnp7.142453136A-T (hg19) / вариант ENST00000288402 p.Val600Glu ENST00000288402 c.1799T>A	3.9e-6%	34%	2636
L1	Микросателлитная нестабильность			2605
LoF/D	TP53 сnp17.75192720G-C (hg19) / вариант ENST00000249305 p.Ser104GlnfsTer43 ENST00000249305 c.314dup	0	10%	3234
LoF/D	PTEN сnp10.81645210G-C (hg19) / вариант ENST00000371953 p.Leu57PhefsTer6 ENST00000371953 c.170dup	0	13%	6358
LoF/D	PTEN сnp10.81645210G-C (hg19) / вариант ENST00000371953 p.Pro103ThrfsTer4 ENST00000371953 c.306dup	0	14%	3575

Sample_01

Карман Анна Олеговна, Ж, 1993-01-15

Тип образца: FFPE

Заболевание: Колоректальный рак

Дата исследования: 2022-04-14

Дата забора материала: неизвестна

Источник биоматериала: клика

Маркировка материала: 27243/A22

Диагноз: C20 Рак прямой кишки, умеренно-дифференцированная аденокарцинома T4aN0M0, IВ стадия.

Решить задачу Генерация отчета Отправить врачу

Предсказанный маркер: M3 РФ (L1) Драйверный вариант (D)

Природа варианта: соматический

Эффект варианта: активирующий [GoF]

VAF - 34% (AD - 3408, DP - 18021), Частота в моих образцах - 1% (10 / 1821)

dbSNP COSMIC GnomAD SIFT CADD MutPred spliceAI

rs11448807 COSV54056443 1% 0% D D N N

окружение варианта (hg19) GGGCTCTAGTTACCAACTTTAGGTCTATCCGATCCAG

ампликоны

Получить результаты секвенирования Сгенерировать в PDF Сгенерировать в PDF

Изменить интерпретацию

Рисунок 23. Пример обозначения символом “огонь” варианта-мутации основателя (для наследственных вариантов) или варианта, расположенного в позиции рекуррентного соматического мутагенеза / хотспот вариант (для соматических вариантов)

Панель фильтрации молекулярных альтераций позволяет отобрать варианты, которые будут отображены в основной таблице

Обратно к списку результатов

Панель: Solo Atlas+

Контроль качества пройден

Секвенирование на Illumina NextSeq, 2022-04-14

SNV/indel CNV соматические наследственные клинически незначимые артефакты

Настроить выборку SNV/indel Введите ген или вариант

Значимость	Ген	MAF	VAF/CN	PVAL
GoF/D/L1	BRAF сnp7.142453136A-T (hg19) / вариант ENST00000288402 p.Val600Glu ENST00000288402 c.1799T>A	3.9e-6%	34%	2636
L1	Микросателлитная нестабильность			2605
LoF/D	TP53 сnp17.75192720G-C (hg19) / вариант ENST00000249305 p.Ser104GlnfsTer43 ENST00000249305 c.314dup	0	10%	3234
LoF/D	PTEN сnp10.81645210G-C (hg19) / вариант ENST00000371953 p.Leu57PhefsTer6 ENST00000371953 c.170dup	0	13%	6358
LoF/D	PTEN сnp10.81645210G-C (hg19) / вариант ENST00000371953 p.Pro103ThrfsTer4 ENST00000371953 c.306dup	0	14%	3575

Sample_01

Карман Анна Олеговна, Ж, 1993-01-15

Тип образца: FFPE

Заболевание: Колоректальный рак

Дата исследования: 2022-04-14

Дата забора материала: неизвестна

Источник биоматериала: клика

Маркировка материала: 27243/A22

Диагноз: C20 Рак прямой кишки, умеренно-дифференцированная аденокарцинома T4aN0M0, IВ стадия.

Решить задачу Генерация отчета Отправить врачу

Предсказанный маркер: M3 РФ (L1) Драйверный вариант (D)

Природа варианта: соматический

Эффект варианта: активирующий [GoF]

VAF - 34% (AD - 3408, DP - 18021), Частота в моих образцах - 1% (10 / 1821)

dbSNP COSMIC GnomAD SIFT CADD MutPred spliceAI

rs11448807 COSV54056443 1% 0% D D N N

окружение варианта (hg19) GGGCTCTAGTTACCAACTTTAGGTCTATCCGATCCAG

ампликоны

Получить результаты секвенирования Сгенерировать в PDF Сгенерировать в PDF

Изменить интерпретацию

Рисунок 24. Панель фильтрации молекулярных альтераций (обозначена красной рамкой)

Нажатие на строку конкретной молекулярной альтерации в основной таблице позволяет просмотреть детальную информацию по качеству детектирования этого варианта, а также его аннотацию в правой нижней панели.

Детальный просмотр результатов анализа качества данных доступен в левой верхней панели.

Контроль качества пройден

Панель: Solo Atlas+

Sample_01

Картина Анна Олеговна, Ж. 1993-01-15

Тип образца: FFPE

Заболелание: Колоректальный рак

Дата исследования: 2022-04-14

Дата забора материала: неизвестно

Источник биоматериала: киста

Маркировка материала: 27243/A22

Диагно: C20 Рак прямой кишки, умеренно-дифференцированный аденокарцинома

T4aNM0, IIB стадия

Подтвердить

Генерация отчета

Отправить архив

Вариант	Ген	MAF	VALEN	PVAL
BRAF	chr7:145432134-1 (hg19) / экзон ENST00000288402 c. Val600Gly ENST00000288402 c. 1799T>A	3.9e-6%	34%	2636
L1	Микросателлитная нестабильность			2605
TP53	chr17:15792720-40 (hg19) / экзон ENST00000269305 p. Ser104GlnfsTer43 ENST00000269305 c. 314dup	0	10%	3234
PTEN	chr10:89482700-17 (hg19) / экзон ENST00000271953 p. Leu57PhefsTer6 ENST00000271953 c. 170dup	0	13%	6358
PTEN	chr10:89482700-17 (hg19) / экзон ENST00000271953 p. Phe132ThrfsTer4 ENST00000271953 c. 38dup	0	14%	3575

Подтвердить

Сгенерировать отчет

Изменить интерпретацию

Рисунок 27. Пример детального просмотра результатов анализа качества данных (выделен красной рамкой)

- После завершения работы ПО Solo AVES результаты анализа сохраняются в виде отчетов формата .pdf по каждому образцу. Каждый отчет по отдельному образцу будет иметь название вида SampleName.pdf, где SampleName - имя образца, указанное при его добавлении в окне 'запустить анализ данных'. Открыть отчет по образцу можно с помощью любой программы для просмотра .pdf файлов (например, Adobe Acrobat Reader версии 22 и выше).
- В отчете по каждому образцу указывается информация об обнаруженных генетических вариантах в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA (см. рисунок 28), а также информация о контрольных метриках качества набора прочтений, включая такие показатели как: интегральная расчетная чувствительность детектирования рекуррентных генетических вариантов, равномерность покрытия пула (униформность), средняя глубина покрытия пула.

Результаты молекулярно-генетического исследования методом NGS

oncoatlas

Направляющий врач

нет информации

Образец

Тип образца: FFPE материал
 Источник биоматериала: нет информации
 Дата забора материала: нет информации
 Идентификатор материала: нет информации

Пациент

нет информации
 Дата рождения: нет информации
 Заболевание: нет информации

Результат: Положительный

Обнаруженные генетические варианты:

BRCA2

chr13:32914529A>T (hg19)
 ENST00000380152:c.6037A>T
 ENST00000380152:p.Lys2013Ter
 rs80358840

Обнаруживается с частотой
 альтернативного аллеля 48%

Описание исследования:

Исследование выполнено с помощью набора реагентов "HELICON® ABC Плюс" (производитель ООО "ОнкоАтлас", г.Москва)

Качество данных:

Бисинформатический контроль качества пройден. Глубина покрытия: 5368x (пул 1 – 5604x, пул 2 – 5132x); униформность (MAPD): 1.527 (пул 1 – 1.501; пул 2 – 1.527); расчетная чувствительность: 100%

Отчет предназначен для использования специалистами в области клинической онкологии и/или генетики

Рисунок 28. Пример отчета, сгенерированного по результатам анализа данных в ПО “Solo AVEs” (Образец №6 из тестового набора данных. Красным выделены основные элементы отчета. В разделе “Обнаруженные генетические варианты” приводится список обнаруженных генетических вариантов. В разделе “Качество данных” приводятся контрольные метрики качества данных высокопроизводительного секвенирования)

8. Интерпретация результатов

Результаты считаются валидными, если следующие метрики качества данных секвенирования для каждого исследуемого образца соответствуют заявленным (см. рис.29). Контрольные метрики качества рассчитываются с помощью ПО “Solo AVEs” <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023 и приводятся в .pdf отчете в разделе “качество данных” (см. рисунок 28).

72


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

	Интегральная расчетная чувствительность детектирования рекуррентных генетических вариантов	Равномерность покрытия в пуле (униформность) (максимальное значение)	Средняя глубина покрытия пула (минимальное значение)
Контрольные метрики качества данных секвенирования при анализе образцов ДНК, выделенных из операционного (биопсийного) материала пациента фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE)			
BRCA1	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
BRCA2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
CHEK2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
ATM	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
PALB2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
PIK3CA	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
Контрольные метрики качества данных секвенирования при анализе образцов ДНК, выделенной из плазмы крови пациента ("жидкостная биопсия")			
PIK3CA	не менее 0.99	не более 3	не менее 5000x
Контрольные метрики качества данных секвенирования при анализе образцов ДНК, выделенной цельной крови			
BRCA1	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
BRCA2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
CHEK2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
ATM	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
PALB2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x

Рисунок 29. Контрольные метрики качества данных секвенирования

7. УТИЛИЗАЦИЯ

Уничтожение отходов, использованных и неиспользованных компонентов набора, наборов с истекшим сроком годности проводить в соответствии с СанПиН 2.1.3684-21.

Жидкие отходы (реагенты, реактивы) неиспользованных компонентов набора уничтожают разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как производственный или бытовой мусор.

Отходы биоматериала (инфицированные и потенциально инфицированные отходы) из клинико-диагностических лабораторий, работающих с микроорганизмами 3-4 групп патогенности, образцы материала после обработки ДНК и отходы после проведения амплификации подлежат обязательному обеззараживанию (дезинфекции).

8. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Наборы вариантов исполнения «HELICON® ABC Плюс С-А», «HELICON® ABC Плюс С-Б», «HELICON® ABC Плюс А» и «HELICON® ABC Плюс Б» могут транспортироваться при температуре 2-8°C в течение 6 часов. При более длительной транспортировке наборы должны быть транспортированы всеми видами крытого транспорта при температуре от минус 22 до минус 20° (при использовании хладоэлементов (- 20°C)).

Наборы вариантов исполнения «HELICON® ABC Плюс С-А», «HELICON® ABC Плюс С-Б», «HELICON® ABC Плюс А» и «HELICON® ABC Плюс Б» транспортируются всеми видами крытого транспорта при температуре от минус 22 до минус 20°C при использовании хладоэлементов (- 20°C) в течение суток.

После получения «Комплект для целевого обогащения ДНК» должен храниться в зоне «пре-ПЦР» (при температуре минус 22 до минус 20°C), а «Комплект для приготовления библиотек ДНК» (при температуре минус 22 до минус 20°C), «Комплект для циркуляризации библиотек» (при температуре минус 22 до минус 20°C) должны храниться в зоне «пост-ПЦР». Магнитные частицы из комплекта для приготовления библиотек должны храниться при температуре от минус 22 до минус 20°C до первого вскрытия – после него при температуре 2-8°C.

После получения «Комплект для целевого обогащения ДНК», «Комплект для приготовления библиотек ДНК», «Комплект для циркуляризации библиотек» должны храниться при температуре от минус 22 до минус 20 °C в течение всего срока годности. Магнитные частицы из комплекта для приготовления библиотек должны храниться при температуре от минус 22 до минус 20°C до первого вскрытия – после него при температуре 2-8°C в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности и условия хранения вскрытых реагентов соответствуют сроку годности и условиям хранения, указанным на этикетках для невскрытых реагентов.

9. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

Производитель гарантирует соответствие основных параметров и характеристик набора требованиям, указанным в технической и эксплуатационной документации, в течение установленного срока годности и при соблюдении всех условий хранения, транспортирования и эксплуатации.

Рекламации по качеству набора направлять по адресу: Общество с ограниченной ответственностью «ОНКОАТЛАС», 119049, г. Москва, вн.тер.г. Муниципальный Округ Якиманка, пр-кт Ленинский, д. 4, стр. 1А, помещ. 2/2, телефон/факс: +7-(495)-212-19-11, e-mail: solo@oncoatlas.ru

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

В настоящей инструкции применяются следующие сокращения и обозначения:

ДНК	- дезоксирибонуклеиновая кислота
КО	- контрольный образец

СИМВОЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПЕЧАТНОЙ ПРОДУКЦИИ

	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Температурный диапазон
	Изготовитель
	Номер по каталогу

Перечень применяемых производителем медицинского изделия национальных стандартов

Приказ МЗ РФ №4н от 06.06.2012	Об утверждении номенклатурной классификации медицинских изделий
Приказ МЗ РФ № 11н от 19.01.2017	Об утверждении требований к содержанию технической и эксплуатационной документации производителя (изготовителя) медицинского изделия
ГОСТ 2.114-2016	Единая система конструкторской документации. Технические условия.
ГОСТ Р 51088-2013	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации
ГОСТ 31508-2012	Изделия медицинские. Классификация в зависимости от потенциального риска применения. Общие требования
ГОСТ Р 51352-2013	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Методы испытаний.
ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023	ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКИЕ. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования.
ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003)	Лаборатории медицинские. Требования безопасности.
ГОСТ 3885-73	Реактивы и особо чистые вещества. Правила приемки, отбор проб, фасовка и маркировка.
ГОСТ Р ИСО 23640-2015	Изделия медицинские для диагностики invitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики invitro.
ГОСТ 17.2.3.02-2014	Правила установления допускаемых выбросов загрязняющих веществ промышленными предприятиями
ГОСТ 17.2.3.01-1986	Охрана природы. Атмосфера. Правила контроля качества воздуха населенных пунктов
ГН 2.1.6.1338-03	ПДК загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест
ГН 2.2.5.1313-03	ПДК вредных веществ в воздухе рабочей зоны
МУ 1.3.2569-09	Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV группы патогенности
СанПиН 2.1.3684-21	Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам,

	питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий
СП 2.2.3670-20	«Санитарно-эпидемиологические требования к условиям труда».
ГОСТ 12303-80	Картон коробочный.
ГОСТ 15.309-98	Система разработки и постановки продукции на производство. Испытания и приемка выпускаемой продукции
ГОСТ ISO 14971- 2021	Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям.
ГОСТ Р 55544-2013	Программное обеспечение медицинских изделий. Часть 1. Руководство по применению ИСО 14971 к программному обеспечению изделий.
ГОСТ Р ИСО 13845-2017	Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования.
ГОСТ Р ИСО 9001-2015	Системы менеджмента качества. Требования.
ГОСТ Р ИСО 9127-94	Системы обработки информации. Документация пользователя и информация на упаковке для потребительских программных пакетов
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 IEC 62304-2022	Изделия медицинские. Программное обеспечение. Процессы жизненного цикла.

Пропнуровано и
пронумеровано 77 листов.





РУКОВОДСТВО ПОЛЬЗОВАТЕЛЯ

HELICON® ABC Плюс

«Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023»

ООО «ОНКОАТЛАС»

Содержание

Описание и назначение

Состав набора

Принцип действия набора

Характеристики набора

Рекомендованное оборудование, реагенты и материалы, не включенные в набор

Анализируемые образцы и пробоподготовка

Экстракция ДНК из исследуемых образцов

Общие правила и рекомендации для работы с набором

ПРОТОКОЛ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

I. Проведение целевого обогащения ДНК

II. Приготовление библиотек ДНК

1. Удаление праймеров из ПЦР продуктов

2. Лигирование адаптеров к ампликонам

3. Первый этап очистки библиотек

4. Второй этап очистки библиотек

5. Преамплификация библиотеки

6. Очистка преамплифицированной библиотеки

7. Измерение концентрации библиотек и расчет фактора разведения

III. Циркуляризация библиотек

IV. Подготовка образцов к секвенированию и секвенирование

V. Анализ данных и интерпретация результатов

VI. Транспортировка и хранение

Описание и назначение

Набор «HELICON® ABC Плюс» предназначен для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, в образцах ДНК человека, выделенной из операционного или биопсийного материала, фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE-блоки), плазмы крови, а также из цельной крови, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации методом высокопроизводительного секвенирования на генетическом секвенаторе «Секвенатор генетический HELICON®» (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023) производства ООО "Ухань ЭмДжиАй Тех Ко., Лтд."

Требования к эксплуатации набора

Для анализа данных, полученных с помощью набора, должно применяться программное обеспечение «Solo AVEs» <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023 (далее - ПО «Solo AVEs»), входящее в состав набора. Применение набора по назначению возможно только при наличии доступа к сети интернет со скоростью загрузки не менее 1 Mbps и скоростью отдачи не менее 10 Mbps (для анализа данных на ПО «Solo AVEs»).

До начала работы следует выполнить тестовый вход в систему по ссылке <https://aves.oncoatlas.ru/> с парой логин/пароль, которая предоставляется ООО «ОНКОАТЛАС»: при переходе по ссылке должна открыться стартовая страница авторизации в личном кабинете пользователя, куда необходимо ввести логин и пароль в соответствующих полях, затем нажать кнопку «Войти». При корректной авторизации осуществляется переход в личный кабинет пользователя. Необходимо убедиться, что на главной странице личного кабинета есть кнопка «Запустить анализ данных» и вкладки «Образцы», «Анализ данных». В случае отсутствия данных элементов следует обновить страницу нажатием комбинации клавиш Ctrl+F5. При неудачной попытке тестового входа необходимо связаться с производителем набора реагентов по электронной почте it-solo@oncoatlas.ru.

При анализе библиотек ДНК, приготовленных с помощью набора из ДНК, выделенной из цельной крови и плазмы крови, а также из операционного или биопсийного материала, фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE блоки), рекомендованная глубина покрытия составляет не менее 5000x.

Важно! При возникновении технических сбоев в работе компьютера или сети Интернет рекомендуется обратиться к ПО «Solo AVEs» после устранения неполадок со стороны пользователя или провайдера либо осуществить доступ к ПО «Solo AVEs» с другого компьютера, подключенного к другой сети, соответствующей требованиям, предъявляемым к сети Интернет для корректной работы ПО «Solo AVEs». Потеря доступа к сети Интернет никак не влияет на качество получаемого отчета (рис. 28), если предприняты рекомендованные меры.

Показанием к применению набора является проведение целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК для дальнейшего одновременного выявления носительства (отсутствия носительства) генетических вариантов в целевых регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации.

В состав набора входит положительный контрольный образец. Его использование рекомендовано в каждом отдельном запуске, так как обеспечивает контроль правильности срабатывания теста и отсутствия контаминации.

Состав набора

Набор «HELICON® ABC Плюс» рассчитан на проведение анализа 48 образцов (включая контрольный образец).

Набор выпускается в четырех вариантах исполнения: «HELICON® ABC Плюс А», «HELICON® ABC Плюс Б», «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б». Варианты исполнения «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б» включают компоненты для целевого обогащения ДНК, приготовления библиотек и циркуляризации библиотек, а

варианты исполнения «HELICON® ABC Плюс А» и «HELICON® ABC Плюс Б» включают компоненты для целевого обогащения ДНК и приготовления библиотек. Варианты исполнения «HELICON® ABC Плюс А» может быть использован совместно с вариантом исполнения «HELICON® ABC Плюс С-Б», а «HELICON® ABC Плюс С-А» совместно с «HELICON® ABC Плюс Б» при необходимости анализа до 96 образцов. Допускается объединять библиотеки ДНК, приготовленные с помощью разных наборов при условии, что в одном цикле секвенирования каждый уникальный адаптер будет встречаться только 1 раз. Таким образом, в одном цикле секвенирования может быть объединено до 96 уникальных образцов, включая контроли.

Варианты исполнения «HELICON® ABC Плюс А» и «HELICON® ABC Плюс Б» отличаются только наборами адаптеров, аналогично «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б» различаются наборами адаптеров. Чередование использования наборов с литерами «А» и «Б» позволяет избежать попадания примесей образцов из предыдущего анализа в процессе секвенирования.

Контрольный образец (КО) рекомендуется включать в каждую постановку в дополнение к анализируемым образцам. При этом объем этого компонента в наборе позволяет подготовить по 4 библиотеки контрольного образца.

Наборы «HELICON® ABC Плюс А» и «HELICON® ABC Плюс Б» включают два комплекта: Комплект для целевого обогащения ДНК (его необходимо хранить в пре-ПЦР зоне) и Комплект для приготовления библиотек (его необходимо хранить в пост-ПЦР зоне). Наборы «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б» включают три комплекта: Комплект для целевого обогащения ДНК (необходимо хранить в пре-ПЦР зоне), Комплект для приготовления библиотек (необходимо хранить в пост-ПЦР зоне), Комплект для подготовки образца к секвенированию (необходимо хранить в пост-ПЦР зоне) и Комплект для циркуляризации библиотек (необходимо хранить в пост-ПЦР зоне).

Состав набора представлен в таблице 1.

Таблица 1

Состав набора «HELICON® ABC Плюс»

Наименование компонента	Цвет вкладыша на крышке	Объем	Хранение
Комплект для целевого обогащения ДНК			
ПЦР-смесь 1	Красный	192 мкл	От -22 до -20°C
Раствор праймеров 1	Желтый	240 мкл	От -22 до -20°C
Раствор праймеров 2	Желтый	240 мкл	От -22 до -20°C
КО	Черный	24 мкл	От -22 до -20°C
Комплект для приготовления библиотек ДНК			
Реагент В	Белая круглая этикетка с символом В	4500 мкл	От -22 до -20°C
ТЕ буфер	Белая круглая этикетка с символом ТЕ	4500 мкл	От -22 до -20°C
ПЦР-смесь 2	Черный	2 пробирки × 1152 мкл	От -22 до -20°C

Активатор	Зеленый	96 мкл	От -22 до - 20°C
Раствор Л	Желтый	192 мкл	От -22 до - 20°C
ДНК-лигаза	Синий	96 мкл	От -22 до - 20°C
Адаптеры	Плашка на 48 лунок с прозрачной пленкой	48 лунок × 2 мкл	От -22 до - 20°C
Магнитные частицы	Нет вкладыша	3840 мкл	От -22 до - 20°C ¹
Раствор праймеров 3	Фиолетовый	192 мкл	От -22 до - 20°C
Комплект для циркуляризации библиотек			
Сплинт буфер	Прозрачный	46,5 мкл	От -22 до - 20°C
ДНК-лигаза Ц	Желтый	2,0 мкл	От -22 до - 20°C
Буфер для расщепления	Синий	5,75 мкл	От -22 до - 20°C
Расщепляющий фермент	Зеленый	10,5 мкл	От -22 до - 20°C
Стоп-буфер	Красный	30 мкл	От -22 до - 20°C
Частицы для очистки ДНК	Черный	800 мкл	От -22 до - 20°C
TE буфер Ц	Фиолетовый	400 мкл	От -22 до - 20°C
ПО "Solo AVES" https://aves.oncoatlant.ru/ , версия 1.03.04 от 04.02.2023.			

Принцип действия набора

Набор предназначен для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA. В основе работы набора лежит амплификация целевых участков ДНК методом мультиплексной ПЦР.

Процесс состоит из 5 этапов: четырех этапов приготовления ДНК библиотек и этапа подготовки ДНК-наношариков и секвенирования с использованием секвенатора «Секвенатор генетический HELICON®» (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023) производства ООО "Ухань ЭмДжиАй Тех Ко., Лтд."

Первый этап: ДНК, выделенная из биоматериала пациента, используется для наработки целевых фрагментов при помощи мультиплексной ПЦР (Первичная амплификация).

Второй этап: Удаление праймеров с концевых участков ПЦР продуктов и лигирование к ним олигонуклеотидных адаптеров с уникальными индексными последовательностями (баркодами), необходимых для последующего секвенирования библиотеки, и позволяющими атрибутировать

¹ Магнитные частицы должны храниться при температуре от минус 22 до минус 20°C до первого вскрытия – после него при температуре 2-8°C.

каждую полученную нуклеотидную последовательность исходному образцу ДНК после секвенирования. Очистка библиотек на магнитных частицах.

Третий этап: Вторичная амплификация и очистка библиотек. Позволяет наработать необходимое количество библиотеки.

Четвертый этап: Циркуляризация библиотек. К пулу библиотек ДНК вводится олигонуклеотид, комплементарный участкам адаптеров, и лигаза. Добавление такого олигонуклеотида делает возможным циркуляризацию исходных фрагментов ДНК. Последующая обработка библиотек расщепляющим ферментом очищает библиотеки от остатков линейных библиотек.

Пятый этап: Подготовка ДНК-наношариков и секвенирование. Во время подготовки образцов к секвенированию олигонуклеотид служит затравкой при амплификации по типу катящегося кольца – амплификации с множественным вытеснением цепи (Rolling Circle amplification, RCA). Амплификацию проводят до тех пор, пока количество копий исходной матрицы не достигнет 300-500. Благодаря структуре олигонуклеотидов и адаптеров длинная цепь ДНК укладывается в компактную структуру, так называемый наношарик (DNA nanoball, DNB). Полученную библиотеку фрагментов ДНК в виде наношариков наносят на специальную проточную ячейку. Проточная ячейка несет заряженные участки, к которым за счет электростатических сил присоединяются наношарики. Расстояние между заряженными участками рассчитаны таким образом, что к каждому участку присоединяется один наношарик.

Во время секвенирования (на секвенаторе «Секвенатор генетический HELICON®» (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023) производства ООО "Ухань ЭмДжиАй Тех Ко., Лтд.") к наношарикам добавляется праймер для секвенирования (Ансог — якорная последовательность, якорь). Он присоединяется к адаптерной последовательности ДНК-наношарика. Далее в реакцию добавляется 4 вида нуклеотидов, каждый из которых мечен индивидуальным флуоресцентным красителем. Нуклеотид присоединяется комплементарно к синтезируемой последовательности ДНК. После его присоединения лишние неспецифичные нуклеотиды удаляются из реакции. Флуоресцентная метка на присоединившемся нуклеотиде возбуждается лазером и сигнал детектируется CCD-камерой. После детекции флуоресцентная метка отщепляется, и проточная ячейка промывается. При повторении циклов присоединения нуклеотида и детекции сигнала происходит секвенирование исходной цепи ДНК.

Анализ полученных на секвенаторе данных осуществляется с помощью программного обеспечения ООО "ОНКОАТЛАС" "Solo AVEs" <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023 (далее ПО - "Solo AVEs"), входящего в состав Набора. ПО "Solo AVEs" одновременно анализирует генетические варианты всех целевых регионов.

Класс потенциального риска применения ПО "Solo AVEs" – 26.

Класс безопасности ПО "Solo AVEs" – А.

В Наборе имеются три комплекта, необходимые для проведения первых четырех этапов.

Для подготовки библиотек к секвенированию ДНК и проведению секвенирования библиотек образцов на приборе «Секвенатор генетический HELICON® секвенирования нового поколения» (в варианте исполнения: Секвенатор генетический HELICON® G50, в составе) (РЗН 2023/21588 от 28.11.2023) необходимо использовать соответствующие комплекты из состава наборов «Набор реагентов MGI G50 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» и действовать согласно инструкции производителя. Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»: Набор реагентов G50 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G50 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G50 SM FCS PE100 для высокопроизводительного секвенирования; Набор реагентов G50 SM FCS PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

Для подготовки библиотек к секвенированию ДНК и проведению секвенирования библиотек образцов на приборе «Секвенатор генетический HELICON® секвенирования нового поколения» (в вариантах исполнения: Секвенатор генетический HELICON® G400, в составе) (РЗН 2023/21587 от 29.11.2023) необходимо использовать соответствующие комплекты из состава наборов «Набор реагентов MGI G400 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» и действовать согласно инструкции производителя. Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON®

ABC Плюс»: Набор реагентов G400 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G400 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

Принцип работы набора проиллюстрирован на рисунке 1:

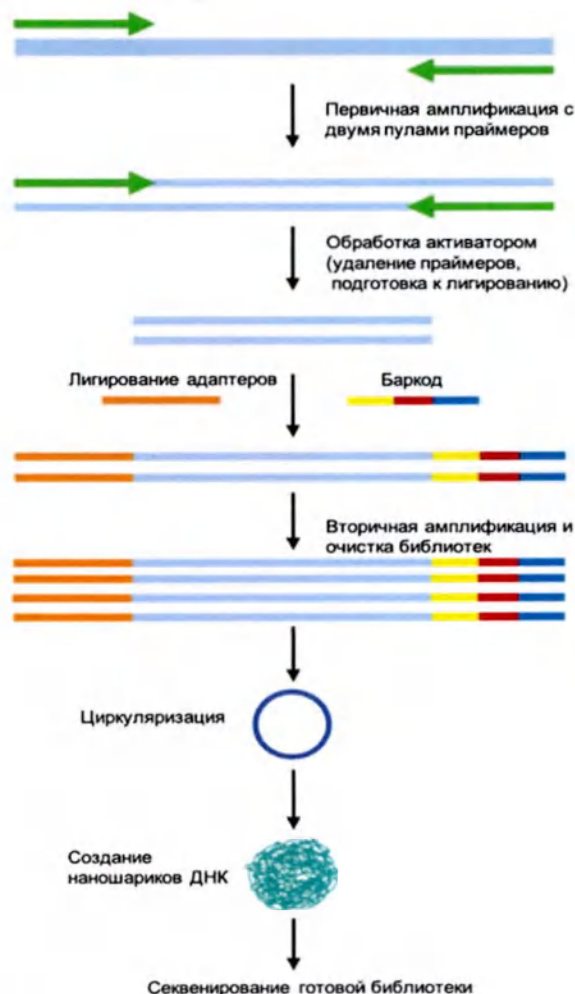


Рисунок 1. Принцип работы набора

Набор включает следующие комплекты:

- **Комплект для целевого обогащения ДНК**

Комплект для целевого обогащения ДНК необходим для обогащения фрагментами ДНК, содержащими исследуемые регионы генов. Для осуществления первого этапа - постановки первичной амплификации (мультиплексной ПЦР) - используется смесь реагентов для амплификации («ПЦР-смесь 1») и набор праймеров, состоящий из двух отдельных пулов (в пробирках «Раствор праймеров 1» и «Раствор праймеров 2»). Реакция амплификации выполняется отдельно для каждого пула праймеров. Остальные компоненты для проведения ПЦР-реакции входят в состав «ПЦР-смеси 1». Кроме того, в Комплект входит контрольный образец (пробирка «КО»), содержащий генетический вариант chr17:41209079T>TG. Контрольный образец содержит один обозначенный контрольный генетический вариант в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA и позволяет контролировать правильность проведения подготовки библиотек и их секвенирования. Описание компонентов Комплекта для целевого обогащения ДНК приводится в таблице 2.

Таблица 2

Описание компонентов Комплекта для целевого обогащения ДНК

Название	Описание
Раствор праймеров 1	Необходим для наработки целевых фрагментов ДНК, содержащих исследуемые мутации, в ходе первичной амплификации (мультиплексной ПЦР)
Раствор праймеров 2	Необходим для наработки целевых фрагментов ДНК, содержащих исследуемые мутации, в ходе первичной амплификации (мультиплексной ПЦР)
ПЦР-смесь 1	Буферный раствор, содержащий ДНК-полимеразу и другие компоненты, необходимые для проведения первичной амплификации ДНК (мультиплексной ПЦР)
КО	Водный раствор ДНК человека, содержащий генетический вариант chr17:41209079T>TG. Он позволяет контролировать правильность проведения подготовки библиотек и их секвенирования

• **Комплект для приготовления библиотек**

Комплект для приготовления библиотек необходим для приготовления библиотек из полученных с помощью Комплекта для целевого обогащения ДНК продуктов ПЦР.

По завершении ПЦР-реакции продукты амплификации, полученные с использованием двух пулов праймеров для одного исходного образца ДНК, объединяются. На следующем этапе происходит удаление праймеров с концов полученных продуктов ПЦР и подготовка концевых участков к лигированию с помощью «Активатора». Далее проводится лигирование адаптеров, несущих индивидуальный уникальный баркод («Адаптер 1-68 (69-128)») к продуктам амплификации с помощью «Раствора Л» и «ДНК-лигазы». После этого проводится очистка полученных фрагментов ДНК с помощью «Магнитных частиц». На следующем этапе проводится вторичная амплификация продуктов ПЦР (пробирки «ПЦР-смесь 2», «Раствор праймеров 3»). Введение баркодов позволяет проводить одновременное секвенирование до 96 образцов за один запуск прибора. Далее проводится очистка полученного продукта ПЦР на Магнитных частицах с использованием «Магнитных частиц», «Реагента В» и «ТЕ буфера». Описание компонентов Комплекта для приготовления библиотек приводится в таблице 3.

Таблица 3

Описание компонентов Комплекта для приготовления библиотек

Активатор	Обеспечивает удаление праймеров с концов продуктов первичной амплификации и подготовку концевых участков фрагментов к последующему лигированию.
Раствор Л	Обеспечивает работу ДНК-лигазы (содержит необходимые для ее работы компоненты), необходим для лигирования адаптеров
ДНК-лигаза	Лигирует («пришивает») баркодированные адаптеры к наработанным в результате первичной амплификации фрагментам ДНК
Раствор праймеров 3	Смесь коротких одноцепочечных олигонуклеотидов, необходимых для вторичной амплификации библиотек
Магнитные частицы	Необходимы для очистки целевых фрагментов ДНК (от адаптеров и праймеров)
Реагент В	Необходим для очистки целевых фрагментов ДНК от свободных праймеров
ТЕ буфер	Необходим для элюции фрагментов ДНК после очистки на Магнитных частицах от свободных праймеров

ПЦР-смесь 2	Буферный раствор, содержащий ДНК-полимеразу и другие компоненты, необходимые для проведения вторичной амплификации ДНК
Адаптеры	Двухцепочечные олигонуклеотиды, необходимые для проведения вторичной амплификации, для проведения секвенирования, а также для создания уникальной маркировки фрагментов одного образца, что позволяет атрибутировать каждую полученную нуклеотидную последовательность исходному образцу ДНК после секвенирования

• Комплект для циркуляризации

Комплект для циркуляризации необходим для циркуляризации библиотек, полученных с помощью Комплекта для приготовления библиотек.

Очищенные линейные библиотеки циркуляризуются с помощью «Сплинт буфера» и «ДНК-лигазы Ц», не вступившие в реакцию линейные библиотеки расщепляются под действием «Буфера для расщепления» и «Расщепляющего фермента», реакция останавливается после введения «Стоп-буфера». Далее проводится очистка циркуляризованных библиотек на Магнитных частицах с использованием «Частицы для очистки ДНК» и «ТЕ буфера Ц». Описание компонентов Комплекта для циркуляризации приводится в таблице 4.

Таблица 4

Описание компонентов Комплекта для циркуляризации

Сплинт буфер	Обеспечивает работу ДНК-лигазы Ц, содержит олигонуклеотиды для циркуляризации библиотек
ДНК-лигаза Ц	Лигирует («пришивает») олигонуклеотиды к концевым участкам библиотек
Буфер для расщепления	Буфер, в котором работает экзонуклеаза
Расщепляющий фермент	Фермент экзонуклеаза расщепляет не вступившие в реакцию линейные библиотеки
Стоп-буфер	Буфер, в котором останавливается работа экзонуклеазы.
Частицы для очистки ДНК	Необходимы для очистки циркуляризованных библиотек
ТЕ буфер Ц	Буфер для элюции циркуляризованных библиотек.

Характеристика набора:

Аналитическая чувствительность – минимальная концентрация выделенной из FFPE и цельной крови ДНК в пробе, необходимая для проведения анализа, составляет 5 нг/мкл. Минимальная концентрация выделенной из плазмы ДНК в пробе, необходимая для проведения анализа, составляет 1 нг/мкл. Чистота анализируемой ДНК, выраженная в отношении оптических плотностей A260/280 нм, должна составлять не менее 1.6 – 1.8.

Предел обнаружения (LoD) - наименьшая частота мутантного аллеля в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, которую способно выявлять изделие. Составляет 10%.

Значения диагностических характеристик набора

Клинический материал	Количество образцов от пациентов	Результаты испытаний	
		Диагностическая чувствительность	Диагностическая специфичность
		с доверительной вероятностью 95%	
Суммарно по всем образцам	300	98,0-100%	98,0-100%
Плазма крови	100	94,2-100%	94,2-100%
Цельная кровь	100	94,2-100%	94,2-100%
FFPE-блоки	100	94,2-100%	94,2-100%

Параметры секвенирования для образцов ДНК, выделенных из FFPE-блоков, из цельной крови и плазмы крови:

Метрика	Значение	Тип значения
Расчётная чувствительность	0.96	минимальное
Равномерность покрытия пула 1 (MAPD)	Не более 3	максимальное
Равномерность покрытия пула 2 (MAPD)	Не более 3	максимальное
Средняя глубина покрытия пула 1	5000x	минимальное
Средняя глубина покрытия пула 2	5000x	минимальное
Средняя глубина покрытия целевой последовательности	5000x	минимальное

Срок годности набора 12 месяцев.

Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Рекомендованное оборудование, реагенты и материалы, не включенные в набор

Наименование	Пример модели и производителя
Термоциклер	Термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот C1000 (Bio-Rad Laboratories, Inc, США)
Магнитный штатив	Магнитный штатив для пробирок на 0,2 мл стрипованных или однокостящих МагниРэк-3202-ОС (ООО "НПФ Хеликон", Россия, РЗН 2022/16360 от 21.01.2022)
Магнитный штатив	Магнитный штатив для пробирок на 1,5-2,0 мл МагниРэк-2415-О (ООО "НПФ Хеликон", Россия, РЗН 2022/16360 от 21.01.2022).
Миницентрифуга-вортекс	Миницентрифуга-вортекс (FV-2400, SIA "Biosan", Латвия)
Спектрофотометр NanoDrop	Анализатор NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, США).

Дозаторы переменного объема со сменными наконечниками	Дозаторы переменного объема со сменными наконечниками с диапазонами измерения от 0,5 до 10 мкл, от 2 до 20 мкл, от 10 до 100 мкл, от 20 до 200 мкл и от 100 до 1000 мкл (Eppendorf, Германия)
Салфетки безворсовые	Салфетки безворсовые Kimwipes (Kimtech)
Пробирки 1,5 мл - 2 мл	Пробирки 1,5 мл, типа Эппендорф, DNA LoBind, PCR clean, бесцветные (Eppendorf, Германия)
Стрипованные микропробирки	Пробирки в стрипах по 8 штук с отдельно прикрепленными плоскими крышками, PCR clean, бесцветные (MicroAmp® 8-Tube Strip, 0.2 ml #N8010580 Scientific Specialties Incorporated, США).
Штативы для пробирок 0,5 мл	Разные модели и производители
Центрифуга	Центрифуга лабораторная «Eppendorf» Centrifuge 54xx, с принадлежностями (Centrifuge 5430) (Eppendorf AG, Германия).
ПЦР-бокс	БАВ-ПЦР-«Ламинар-С»; (620.100) (ЗАО «Ламинарные системы», Россия)
Штатив для стрипов и планшетов	Разные модели и производители
Штативы для пробирок разного объема (50 мл, 15 мл, 1,5 мл – 2,0 мл, 0,5 мл)	Разные модели и производители
Перчатки	Перчатки нитриловые неопудренные.
Спирт этиловый лабораторный, 96%	Разные производители
Холодильная камера, поддерживающая температуру 2-8°C	Разные модели и производители
Морозильная камера, поддерживающая температуру от -20 до -22°C	Разные модели и производители
Вода деионизованная бидистиллированная	Разные производители
Пластиковый пинцет	Разные модели и производители
Пробирки типа Falcon 50 мл	Разные модели и производители
Наконечники для дозаторов с фильтром разного объема	Разные модели и производители

Секундомер механический однострелочный СО	Разные модели и производители
Холодные штативы для пробирок на 1,5-2 мл и для пробирок на 0,2 мл.	Разные модели и производители

Для экстракции ДНК из исследуемых образцов дополнительно понадобятся:

1. При работе с образцами цельной крови - набор «Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала НК-сорбент для диагностики *in vitro* по ТУ 21.20.23-232-17253567-2018» (ПУ №РЗН 2019/9331 от 02.12.2019).
2. При работе с образцами парафиновых блоков (FFPE) – набор «Экстракт ДНК FFPE набор реагентов для выделения ДНК человека из срезов с FFPE: 1блоков для диагностики *in vitro* по ТУ 9398-001.11248074-2017» (ПУ № РЗН 2019/9172 от 14 апреля 2020) или «Набор реагентов для выделения ДНК cobas DNA Sample Preparation Kit (cobas DNA Sample Preparation Kit, 24)» (ПУ №ФСЗ 2012/12715 от 03 августа 2017).
3. При работе с образцами плазмы – набор «Набор реагентов для выделения ДНК cobas cfDNA Sample Preparation Kit (cobas cfDNA Sample Preparation Kit, 24)» (ПУ №ФСЗ 2012/12715 от 03 августа 2017)

Для секвенирования библиотек дополнительно понадобятся:

1. Генетический секвенатор «Секвенатор генетический HELICON® секвенирования нового поколения» (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023).
2. «Набор реагентов MGI G50 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения»² (РЗН 2023/21588 от 28.11.2023)/ «Набор реагентов MGI G400 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения»³ (РЗН 2023/21587 от 29.11.2023).

Анализируемые образцы и пробоподготовка

Для работы с набором необходимо использовать пробы геномной ДНК, выделенные из цельной крови, пробы опухолевой ДНК, выделенные из операционного (биопсийного) материала пациента, фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE-блоки), а также пробы свободно циркулирующей ДНК, выделенной из плазмы крови пациента (“жидкостная биопсия”).

Для цельной крови необходимо соблюдать следующие требования: взятие крови проводится в пластиковые пробирки объемом 2,5 мл с добавленной в качестве антикоагулянта динатриевой соли этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в конечной концентрации 2 мг/мл. Для перемешивания содержимого пробирку переворачивают 2–3 раза. В качестве антикоагулянта допускается также использование цитрата натрия.

Не допускается использование гепарина в качестве антикоагулянта.

Для парафиновых блоков (FFPE) необходимо соблюдать следующие требования: предварительно провести их морфологический анализ. Рекомендовано использовать образцы, в которых ткань опухоли занимает не менее 80% площади препарата, допустимое минимальное количество опухоли - не менее

² Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»:
Набор реагентов G50 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G50 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G50 SM FCS PE100 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G50 SM FCS PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

³ Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»:
Набор реагентов G400 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования;
Набор реагентов G400 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

20% площади препарата. В случае невыполнения данного условия рекомендуется подготовить гистологический препарат биоматериала и по результатам гистологического исследования провести разметку препарата с обратной стороны предметного стекла, отметив границы зоны опухоли. В дальнейшем, для выделения ДНК необходимо использовать отмеченную область препарата, содержащую опухолевую ткань. Для проведения исследования рекомендуется использовать фрагмент парафинового блока, соответствующий следующим параметрам: толщина каждого среза от 5 до 6 мкм; суммарная площадь фрагментов фиксированной ткани и комплексов клеток человека от 2 см². Хранить и транспортировать материал в парафиновых блоках (FFPE) необходимо при температуре от +5 до +40 °С с соблюдением мер, предотвращающих контаминацию образцов чужеродной ДНК.

Для выделения ДНК из плазмы крови пациента, следует соблюдать следующие правила: взятие крови, обычно 8 мл, проводится в специализированные пробирки, предназначенные для сбора, транспортировки и хранения образца венозной крови с целью анализа внеклеточной ДНК. Для перемешивания содержимого с антикоагулянтом и стабилизатором пробирку следует аккуратно перевернуть 8–10 раз. Пробирку с кровью следует хранить согласно инструкции производителя в темном месте при комнатной температуре.

Центрифугирование пробирки крови и отбор плазмы выполняется в лаборатории непосредственно перед выделением ДНК. На первом этапе центрифугирование проводят в пробирках с образцами крови в течение 15 минут на скорости 1900g при 4 °С. Не задевая осадка супернатант аккуратно переносят в чистые пробирки, затем еще раз центрифугируют 10 минут на 16000g при 4°С. Супернатант переносят в чистые пробирки. Далее следует переходить к выделению ДНК или заморозить и хранить супернатант при -20°С или -80°С до момента выделения.

Экстракция ДНК из исследуемых образцов

Выделение ДНК из образцов цельной крови осуществляется с помощью набора «Набор реагентов для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала НК-сорбент для диагностики *in vitro* по ТУ 21.20.23-232-17253567-2018» (ПУ №РЗН 2019/9331 от 02.12.2019), из парафиновых блоков (FFPE) - с помощью наборов «Экстракт ДНК FFPE набор реагентов для выделения ДНК человека из срезов с FFPE-блоков для диагностики *in vitro* по ТУ 9398-001-11248074-2017» (ПУ № РЗН 2019/9172 от 14 апреля 2020) и «Набор реагентов для выделения ДНК cobas DNA Sample Preparation Kit (cobas DNA Sample Preparation Kit, 24)» (ПУ №ФСЗ 2012/12715 от 03 августа 2017), из плазмы крови - с помощью наборов «Набор реагентов для выделения ДНК cobas cfDNA Sample Preparation Kit (cobas cfDNA Sample Preparation Kit, 24)» (ПУ №ФСЗ 2012/12715 от 03 августа 2017).

Набор рекомендован для работы с образцами ДНК, выделенной из цельной крови, операционного (биопсийного материала), фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE-блоки), с концентрацией не менее 5 нг/мкл.

Минимальная валидированная концентрация ДНК – 2 нг/мкл.

Для свободно циркулирующей ДНК (сцДНК), выделенной из плазмы крови, концентрация ДНК должна быть не меньше 1 нг/мкл. Дополнительно рекомендуется провести фрагментный анализ выделенной сцДНК, чтобы убедиться, что в ней нет примеси геномной ДНК.

Дополнительно рекомендуется для оценки степени чистоты выделенного образца ДНК из парафиновых блоков использовать значение соотношения поглощения света образцом ДНК на длинах волн 260 нм и 280 нм (A260/280). Рекомендуемое значение соотношения – не менее 1.6 – 1.8.

Анализируемый материал не подлежит использованию при нарушении условий хранения и транспортировки. Анализируемая ДНК должна храниться и транспортироваться при температуре от 2 °С до 8 °С и использоваться для анализа в течение 24 часов. Для хранения более 24 часов раствор ДНК рекомендуется хранить при температуре -20°С.

Общие правила и рекомендации для работы с набором

- Все манипуляции рекомендуется проводить на льду или в охлажденных штативах.

- Протокол описан для работы с индивидуальными пробирками, но позволяет работать как с образцами в формате 96-луночной планшеты, так и в формате 8-луночных стрипов.
- При работе с набором используйте пластик, рекомендованный производителем вашего ПЦР-амплификатора. Не допускайте испарения реакций.
- На протяжении всего протокола необходимо использовать наконечники для дозаторов с фильтром, которые необходимо менять для каждого образца и каждого компонента.
- Делайте общие ПЦР-смеси для создания максимально одинаковых условий ПЦР для разных образцов. При расчете финальных объемов общих смесей, закладывайте запас в 10% на ошибки работы дозаторов.
- Вязкие жидкости отбирайте медленно. Тщательно перемешивайте растворы, компонентами которых являются данные реактивы. ПЦР-смесь 1, ПЦР-смесь 2, Активатор и ДНК-лигазу можно перемешивать только кратковременным вортиксированием или пипетированием.
- Избегайте кросс-контаминации при работе с Адаптерами: чаще меняйте перчатки и открывайте пробирки с индексами по очереди.
- Если в пробирке с Раствором Л и с ПЦР-смесью 2 виден осадок, растворите его вортиксированием или пипетированием, чтобы осадок полностью растворился.
- За 30 минут до начала работы с Реагентом В поместите его на комнатную температуру, тщательно перемешайте реактивы после разморозки.
- Реагент В при -20°C может оставаться в жидком состоянии, либо может быть частично заморожен. В любом случае, после достижения Реагентом В комнатной температуры, необходимо тщательно перемешать Реагент В. Отбирайте этот реагент дозатором медленно и осторожно.
- За 30 минут до начала работы с Магнитными частицами поместите их на комнатную температуру и тщательно вортиксируйте, чтобы перемешать частицы. Отбирайте этот реагент дозатором медленно и осторожно.
- Для приготовления 80% этилового спирта смешайте 96% этиловый спирт с водой в расчете 500 мкл спирта 96% на 100 мкл воды на один образец. Используйте только свежеприготовленный 80% спирт!

ПРОТОКОЛ ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

При получении набора:

1. Снять внешнюю упаковку (пленку)
2. Комплект для целевого обогащения ДНК перенести и хранить в пре-ПЦР зоне в морозильной камере при температуре от -20 до -22°C
3. Комплект для приготовления библиотек перенести и хранить в пост-ПЦР зоне
4. Комплект для приготовления библиотек хранить в морозильной камере при температуре от -20 до -22°C.

Для наборов «HELICON® Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б»:

5. Комплект для циркуляризации перенести и хранить в пост-ПЦР зоне
6. Комплект для циркуляризации хранить в морозильной камере при температуре от -20 до -22°C

I. Проведение целевого обогащения ДНК

ВНИМАНИЕ! Работа проводится в Пре-ПЦР зоне

Потребуется:

- ПЦР-смесь 1
- Раствор праймеров №1
- Раствор праймеров №2
- КО
- Анализируемые образцы ДНК (концентрация выделенных из FFPE-блоков или цельной крови - 5 нг/мкл; концентрация выделенных из плазмы крови от 1 нг/мкл)

В каждую постановку в дополнение к образцам рекомендуется ставить КО.

1. Приготовить 2 раствора для амплификации (по одному для каждого раствора праймеров) на необходимое количество реакций согласно таблице:
- 2.

Компонент	Объем на 1 реакцию
ПЦР-смесь 1	2 мкл
Раствор праймеров (№1 или №2)	5 мкл
Всего	7 мкл

3. Смешать в отдельных пробирках по 3 мкл образца с 7 мкл каждого раствора для амплификации. Общий объем каждой реакционной смеси составит 10 мкл. Пробирки должны быть совместимы с используемым термоциклером.

ВНИМАНИЕ! Сначала раскатать по индивидуальным пробиркам готовые растворы для амплификации, затем отдельными наконечниками - исследуемые образцы и КО.

4. Пробирки с образцами и контролями плотно закрыть, перемешать смесь на вортексе и осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек. Поместить в термоциклер.
5. Запрограммировать термоциклер и запустить программу амплификации:

Количество циклов	Шаг	Т°С	Время
1 цикл	Активация ферментов	95 °С	15 мин
19 циклов (для плазмы – 22 цикла)	Денатурация	99 °С	15 сек
	Отжиг и элонгация	60 °С	4 мин
1 цикл	Хранение	4°С	∞

ВАЖНО! ПЦР продукт может храниться 1 ночь при 4-10°С, при более долгом хранении ПЦР продукт должен храниться при –20°С.

II. Приготовление библиотек ДНК

ВНИМАНИЕ! Далее работа проводится в Пост-ПЦР зоне

1. Удаление праймеров из ПЦР продуктов

Потребуется:

- ПЦР продукт
- Активатор

1. Для каждого образца объединить продукты ПЦР из обеих пробирок (с Праймерами №1 и №2). Полученный объем для каждого образца будет составлять 20 мкл.
2. Добавить индивидуальным наконечником по 2 мкл Активатора в каждую пробирку с объединенными продуктами ПЦР. Тщательно перемешать пипетированием, не допуская образования пузырей. Пробирки плотно закрыть, осадить капли с крышек пробирок кратковременным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек. Установить пробирки в термоциклер.
3. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Температура, °С	Время	Кол-во циклов
50	10 мин	1
55	10 мин	
60	20 мин	
10	Хранение не более 1 часа	

По окончании программы незамедлительно приступить к следующему шагу.

2. Лигирование адаптеров к ампликонам

Потребуется:

- ПЦР продукт, обработанный Активатором
- Раствор Л
- Адаптеры
- ДНК-лигаза

4. К каждому образцу внести по 2 мкл Адаптера. Зафиксировать номер адаптера, соответствующий каждому образцу в таблице (см. Приложение или <https://oncoatlas.ru/abcplusmtable.pdf>). В одном запуске секвенирования каждому образцу должен соответствовать уникальный (неповторяющийся) адаптер — это необходимо для идентификации образцов в результатах секвенирования. Адаптеры из наборов с литерами «А» и «Б» можно комбинировать между собой.

5. Тщательно перемешать пипетированием. Пробирки плотно закрыть, осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек.

6. Приготовить смесь 2 мкл ДНК-Лигазы и 4 мкл Буфера Л на необходимое количество образцов согласно схеме, добавить к каждому образцу по 6 мкл премикса.

Компонент	Объем на 1 реакцию
ДНК-Лигаза	2 мкл
Буфера Л	2 мкл
Всего	4 мкл

Общий объем смеси составит 30 мкл. Пробирки плотно закрыть, перемешать содержимое, осадить капли с крышки пробирки кратковременным центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек. Установить пробирки в термоциклер.

7. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Температура	Время
22°C	30 минут
72°C	10 минут
10°C	(хранение до 1 часа)

ВАЖНО! При необходимости пробирки можно хранить при температуре не выше -20°C.

ВНИМАНИЕ! Если планируете перейти к Первому этапу очистки библиотек, поместите магнитные частицы на комнатную температуру и тщательно провортексируйте, чтобы перемешать частицы.

3. Первый этап очистки библиотек

Потребуется:

- Полученная библиотека
- Магнитные частицы

- Деионизированная вода

ВАЖНО! За 30 минут до начала работы с Магнитными частицами поместите их на комнатную температуру и тщательно провортексируйте, чтобы перемешать частицы.

8. Смешать суспензию Магнитных частиц с деионизированной водой согласно таблице:

Компонент	Объем на 1 реакцию
Магнитные частицы	22 мкл
Деионизированная вода	20 мкл
Всего	42 мкл

9. Внести 42 мкл приготовленной суспензии в каждую пробирку с библиотекой, перемешать пипетированием, инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

10. Поместить пробирку, в которой находится реакционная смесь, на магнитный штатив и инкубировать на нем в течение 5 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в пробирках не станет прозрачной.

11. Перенести супернатант в новую чистую пробирку, не задевая осадок частиц.

ВАЖНО! Супернатант содержит библиотеку.

4. Второй этап очистки библиотек

Потребуется:

- Полученная библиотека
- Магнитные частицы
- Свежеприготовленный 80% этанол

ВНИМАНИЕ! Поместите ПЦР-смесь 2 на комнатную температуру, она понадобится на этапе Преамплификации библиотек п.23.

12. Внести 58 мкл Магнитных частиц (неразведенных!) в каждую пробирку с супернатантом, содержащую библиотеку, тщательно перемешать пипетированием.

13. Инкубировать 5 минут при комнатной температуре.

14. Поместить пробирку, в которой находится реакционная смесь, на магнитный штатив и инкубировать на нем в течение 5 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в пробирках не станет прозрачной.

15. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая магнитных частиц. Выждать 10 секунд, отобрать и удалить остатки супернатанта пипеткой на 10 мкл. В случае, если частицы были задеты и попали в наконечник дозатора, вернуть объем в пробирку и повторить п. 14-15.

ВАЖНО! Библиотека содержится на магнитных частицах!

16. Добавить по 150 мкл свежеприготовленного 80% этанола в каждую пробирку и четырежды переместить стрип в магнитном штативе относительно рядов, или тщательно перемешать, для промывки магнитных частиц. Инкубировать на магнитном штативе пока смесь в пробирках не станет прозрачной.

17. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая магнитных частиц в пробирке. Выждать 10 секунд, отобрать и удалить остатки супернатанта пипеткой на 10 мкл. В случае, если частицы были задеты и попали в наконечник дозатора, вернуть объем в пробирку и вернуться к п. 17.

18. Повторить шаги 16-17 для повторной промывки магнитных частиц.

19. Убедиться в том, что капли спирта полностью удалены из пробирок. При необходимости осадить капли кратковременным центрифугированием, поместить на магнитный штатив,

инкубировать 30 секунд при комнатной температуре и удалить излишки спирта пипеткой на 10 мкл, не задевая магнитных частиц. Просушить магнитные частицы на воздухе в течение 5 минут, не вынимая из магнитного штатива.

ВАЖНО! Не пересушить магнитные частицы. Если частицы пересушены, на них заметны потрескивания.

После окончания сушки сразу же приступить к следующему этапу.

5. Преамплификация библиотеки

Потребуется:

- Полученная библиотека на магнитных частицах
- ПЦР-смесь 2
- Смесь праймеров 3

ВНИМАНИЕ! Поместите Реагент В и ТЕ на комнатную температуру, он понадобится на этапе Очистки преамплифицированной библиотеки.

20. Приготовить раствор для амплификации согласно схеме:

Компонент	Объем на 1 реакцию
ПЦР-смесь 2	48 мкл
Смесь праймеров 3	4 мкл
Всего	52 мкл

21. Добавить в каждую пробирку по 52 мкл раствора.

22. Перемешать содержимое на вортексе, чтобы ресуспендировать магнитные частицы и осадить на центрифуге для сбора капель. Установить пробирки в термоциклер.

23. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Стадия	Температура	Время
1 цикл	98°C	2 минуты
12 циклов	98°C	20 секунд
	60°C	30 секунд
	72°C	30 секунд
1 цикл	72°C	10 минут
Хранение	10°C	~1 час или более

ВАЖНО! Не допускается замораживание смеси библиотек с магнитными частицами при -20°C. После окончания ПЦР амплификации приступить к следующему этапу.

6. Очистка преамплифицированной библиотеки

Потребуется:

- Полученная библиотека на магнитных частицах
- Реагент В
- Свежеприготовленный 80% этанол
- ТЕ буфер

24. Тщательно перемешать на вортексе Реагент В перед использованием (Реагент В при -20°C может оставаться в жидком состоянии, либо может быть частично заморожен, однако, даже в этом случае необходимо довести Реагент В до комнатной температуры и тщательно перемешать). Добавить 85 мкл Реагента В в каждую библиотеку и тщательно перемешать на вортексе. Коротко осадить центрифугированием при 1000 об/мин в течение 1–3 сек., чтобы сбросить капли.

25. Инкубировать смесь в течение 5 минут при комнатной температуре.

26. Поместить пробирку на магнитный штатив и инкубировать на нем в течение 5 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в пробирках не станет прозрачной. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая частицы. В случае если частицы были задеты и попали в наконечник дозатора, вернуть объем в пробирку и повторить этот шаг.

27. Добавить к Магнитным частицам 150 мкл свежеприготовленного 80% этанола и подождать 30 секунд, не снимая пробирку с магнитного штатива. Осторожно отобрать и удалить супернатант, не задевая магнитных частиц.

28. Повторить шаг 27 для повторной промывки магнитных частиц.

29. Убедиться в том, что капли спирта полностью удалены из пробирок. При необходимости осадить кратковременным центрифугированием, поместить на магнитный штатив, инкубировать 30 секунд и удалить излишки спирта, не задевая магнитных частиц. В случае если частицы были задеты и попали в наконечник дозатора, вернуть объем в пробирку, повторить инкубацию и отобрать спирт заново. Просушить магнитные частицы на воздухе в течение 5 минут, не вынимая пробирку из магнитного штатива.

ВАЖНО! Не пересушить магнитные частицы. Если частицы пересушены, на них заметны потрескивания.

30. Удалить пробирку с магнитного штатива и добавить в каждую пробирку 35 мкл ТЕ буфера.

31. Тщательно перемешать содержимое на вортексе для ресуспендирования магнитных частиц и осадить на центрифуге для сбора капель.

32. Поместить пробирку на магнитный штатив и инкубировать на нем в течение 3 минут при комнатной температуре, либо пока смесь в ячейках не станет прозрачной. Перенести супернатант с готовыми ДНК библиотеками в новую пробирку, не задевая магнитных частиц. В случае если частицы были задеты и попали в наконечник дозатора, вернуть объем в пробирку и повторить этот шаг.

7. Измерение концентрации библиотек и расчет фактора разведения

Дополнительная нормализация может не проводиться при условии использования одинаковой концентрации ДНК образцов при приготовлении библиотек. Однако, рекомендуется перед разведением измерить концентрацию полученных библиотек на флуориметре Qubit 3.0 с использованием набора Qubit®dsDNA HS Assay Kit.

33. Необходимое минимальное количество библиотеки - 1 пМоль. При средней длине библиотеки панели HELICON® ABC Плюс в 213 нуклеотидов, 1 pmol библиотеки соответствует 140 нг. Рассчитывается по формуле $1 \text{ pmol ПЦР-продукта} = \text{Длина ДНК фрагмента(нк)} \cdot 660 \text{ нг/1000 нуклеотидов}$. Если для каждого образца необходимо одинаковое количество данных секвенирования, следует смешать библиотеки в равном количестве. Необходимое количество образца вычисляется по формуле:

Масса каждого образца (нг) = $140 \text{ нг (масса (нг))} / \text{1 pmol}$ / количество образцов

34. Например, если в запуске 48 образцов, то каждой библиотеке в смеси должно быть по 2,9 нг, в объеме не более 48 мкл.

35. Приготовить эквимольную смесь библиотек в количестве не менее 1 пМоль и объемом не более 48 мкл.

36. В одном анализе (цикле секвенирования) может быть исследовано до 96 библиотек, приготовленных из ДНК, выделенной из опухолевой ткани, до 96 библиотек, приготовленных из образцов ДНК, выделенной из крови, включая контрольные образцы и до 96 библиотек, приготовленных из образцов ДНК, выделенной из плазмы.

ВАЖНО! Неразведенные библиотеки хранить в морозильной камере при температуре от -20 до -22°C.

III. Циркуляризация библиотек

Для циркуляризации библиотек контрольных образцов используются соответствующие комплекты из состава наборов «HELICON® ABC Плюс С-А» и «HELICON® ABC Плюс С-Б».

1. Необходимо пулировать библиотеки таким образом, чтобы общее количество пулированной библиотеки составило 1 пмоль при объеме не более 48 мкл.
2. Перенести 1 пмоль пулированной библиотеки в новую пробирку для ПЦР объемом 0,2 мл. Добавить ТЕ буфер Ц до общего объема 48 мкл.
3. Установить 0,2 мл ПЦР-пробирки с библиотеками в термоциклер.
4. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение программы:

Температура	Время
Нагрев крышки	Включить
95°C	3 минуты

5. По окончании реакции незамедлительно положить пробирки в лед на 2 минуты (чтобы денатурированные цепи ДНК остались денатурированными), после чего кратковременно центрифугировать.
6. Приготовить раствор для циркуляризации одноцепочечных библиотек на льду. Смешать компоненты в следующем соотношении:

Компонент	Объем
Сплинт буфер	11,6 мкл
ДНК-лигаза Ц	0,5 мкл
Общий объем	12,1 мкл

7. Перенести смешанный раствор для циркуляризации одноцепочечных библиотек в пробирку с 48 мкл денатурированных библиотек, перемешайте 3-х кратным вортиксированием. Общий объем составит 60,1 мкл.
8. Сбросить капли коротким центрифугированием.
9. Перенести пробирки в термоциклер и запустить следующую программу:

Температура	Время
Нагрев крышки	-45°C/Выключен
37°C	30 минут
4°C	∞

10. После завершения программы незамедлительно перенести пробирки на лед для следующей реакции.
11. Смешать на льду следующие реагенты, пока идет реакция из п. 10.

Компонент	Объем
-----------	-------

Буфер для расщепления	1,4 мкл
Расщепляющий фермент	2,6 мкл
Общий объем	4 мкл

12. Внесите 4 мкл получившейся смеси в ПЦР-пробирки из п. 10. Провортексируйте 3 раза (3 сек каждую) и сбросьте капли кратким центрифугированием для сбора раствора на дне пробирок. Общий объем смеси составит 64,1 мкл.

13. Установить пробирки в термоциклер.

14. Запрограммировать термоциклер и запустить выполнение следующей программы:

Температура	Время
Нагрев крышки	45°C/Выключен
37°C	30 минут
4°C	∞

15. По завершению программы сбросьте капли с крышек пробирок кратким центрифугированием.

16. Добавьте 7,5 мкл Стоп-буфера. Провортексируйте 3 раза (3 секунды каждую) и сбросьте капли на дно пробирки кратким центрифугированием. Объем смеси составит 71,6 мкл. Перенесите весь раствор в чистые 1,5 мл пробирки.

17. Достаньте Частицы для очистки ДНК из холодильника и дайте прогреться до комнатной температуры в течение 30 минут. Провортексируйте тщательно до гомогенного состояния перед использованием.

18. Добавить 170 мкл Частиц для очистки ДНК к продукту реакции ферментативного расщепления из 17. Перемешать пипетированием не менее 10 раз или провортексировать до гомогенного состояния.

19. Инкубировать при комнатной температуре 10 мин.

20. Сбросить капли кратким центрифугированием, поместить пробирки на магнитный штатив. Инкубировать 2-5 минут или пока жидкость в пробирках не станет прозрачной. Аккуратно отобрать супернатант, не задевая магнитные частицы, и выбросить.

21. Добавить 500 мкл свежеприготовленного 80% спирта, не задевая частицы. Инкубировать 30 секунд. Аккуратно удалить и выбросить супернатант.

22. Повторить п. 22. Убедиться в том, что капли спирта полностью удалены из пробирок. При необходимости осадить кратковременным центрифугированием, поместить на магнитный штатив, инкубировать 30 секунд и удалить излишки спирта, не задевая магнитных частиц. Если частицы были задеты и попали в наконечник дозатора, вернуть объем в пробирку, повторить инкубацию и отобрать спирт заново. Просушить магнитные частицы на воздухе, не вынимая пробирку из магнитного штатива. Не допускайте потрескиваний на магнитных частицах.

23. Убрать 1,5 мл пробирки с магнитного штатива и добавить 32 мкл ТЕ буфера Ц для элюции библиотек. Перемешать 10-ти кратным пипетированием или вортексированием, пока частицы полностью не ресуспендируются.

24. Инкубировать 10 минут на столе.

25. Кратко центрифугировать для сбора капель и поместить пробирки обратно на магнитный штатив. Инкубировать 2-5 минут или пока жидкость не станет прозрачной. Перенести 30 мкл супернатанта в чистые 1,5 мл пробирки.

26. Для контроля пройденной циркуляризации необходимо рассчитать отношение количества одноцепочечной циркуляризованной библиотеки (концентрация (нг/мкл)*объем (мкл)) к количеству пулированной библиотеки (140 нг), взятой на циркуляризацию. Она должна быть $\geq 0,07$ (но меньше 0,5). Например, если было взято 140 нг (1 пмоль пулированной библиотеки длиной 213 нуклеотидов), то концентрация циркуляризованной библиотеки должна быть $\geq 0,33$ нг/мкл. В случае, если концентрация оказалась меньше – следует повторить протокол циркуляризации библиотек.

Важно! При необходимости пробирки можно хранить при температуре не выше -20°C один месяц.

27. Концентрация циркуляризованной библиотеки должна быть ≥ 3 фемтомоль/мкл, а для каждой реакции по изготовлению наношара требуется 60 фемтомолей такой библиотеки.

Для пересчета концентрации в фемтомоль/мкл следует воспользоваться следующей формулой:

$C \text{ (фемтомоль/мкл)} = 3030 * C \text{ (нг/мкл)} / N \text{ (длина библиотеки в нуклеотидах - 213)}$.

Например, концентрация циркуляризованной библиотеки – 0,5 нг/мкл, это соответствует концентрации $3030 * 0,5 / 213 = 7,11$ фемтомоль/мкл.

IV. Подготовка образцов к секвенированию и секвенирование

Этапы подготовки библиотек к секвенированию и секвенирование могут проводиться при использовании системы «Секвенатор генетический HELICON®» (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023) производства ООО "Ухань ЭмДжиАй Тех Ко., Лтд."

Для подготовки библиотек к секвенированию ДНК и проведению секвенирования библиотек образцов на приборе Секвенатор генетический HELICON® G50 необходимо использовать соответствующие комплекты из состава наборов «Набор реагентов MGI G50 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» (РЗН 2023/21588 от 28.11.2023) и действовать согласно инструкции производителя⁴.

Для подготовки библиотек к секвенированию ДНК и проведению секвенирования библиотек образцов на приборе Секвенатор генетический HELICON® G400 необходимо использовать соответствующие комплекты из состава наборов «Набор реагентов MGI G400 для высокопроизводительного секвенирования, в вариантах исполнения» (РЗН 2023/21587 от 29.11.2023)⁵ и действовать согласно инструкции производителя.

Для секвенирования библиотек рекомендуется использовать парно-концевой режим секвенирования с прочтением 102 нуклеотидов для прямого и обратного рида, причем первые 2 цикла каждого рида должны быть «темными». Для настройки режима секвенирования следует руководствоваться разделом № 7 Руководства по эксплуатации Секвенатора генетического HELICON® (РЗН 2023/20825 от 16.08.2023).

V. Анализ данных и интерпретация результатов

В ходе секвенирования секвенатор автоматически распознает азотистые соединения, а также выполняет вывод необработанных данных секвенирования в виде файлов формата FASTQ по завершении секвенирования.

1. Анализ полученных на секвенаторе данных в виде файлов формата FASTQ осуществляется с помощью программного обеспечения от производителя набора реагентов ООО "ОНКОАТЛАС" Solo AVES <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023.

⁴ Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»:

Набор реагентов G50 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования;

Набор реагентов G50 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования;

Набор реагентов G50 SM FCS PE100 для высокопроизводительного секвенирования;

Набор реагентов G50 SM FCS PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

⁵ Варианты исполнения, совместимые с Набором реагентов «HELICON® ABC Плюс»:

Набор реагентов G400 SM FCL PE100 для высокопроизводительного секвенирования;

Набор реагентов G400 SM FCL PE150 для высокопроизводительного секвенирования.

2. Файлы FASTQ, полученные в рамках анализа полученных на секвенаторе данных с помощью программного обеспечения от поставщика генетического секвенатора, могут быть проанализированы с помощью программного обеспечения от производителя набора реагентов ООО «ОНКОАТЛАС» Solo AVES <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023. Анализ файлов FASTQ с помощью программного обеспечения от поставщика набора реагентов осуществляется через веб-браузер (поддерживается веб-браузером Chrome™ версии 39) при наличии доступа в интернет со скоростью загрузки не менее 1Mbps и скоростью отдачи не менее 10Mbps. Для начала работы с программным обеспечением от поставщика необходимо перейти по ссылке <https://aves.oncoatlas.ru/> и выполнить вход в систему по паре логин/пароль, полученной от производителя набора реагентов, после чего нажать кнопку «Войти».

Личный кабинет

E-mail

Пароль

Войти

☐ Запомнить меня



Рисунок 2. Вход в программное обеспечение Solo AVES

В течение не более полугода после получения наборов реагентов пара логин/пароль, в случае если не предоставлялась пользователю ранее, предоставляется производителем набора реагентов в срок не более 7 рабочих дней после запроса пользователя электронным путем (электронная почта, запрос направляется на почту it-solo@oncoatlas.ru).

3. Создание заявки на анализ данных.

Шаг 1. Перейти в раздел "Запустить анализ данных"



Рисунок 3. Экран запуска анализа данных

Шаг 2. Откроется окно создания заявки на анализ данных. В рамках одной заявки на анализ данных можно проанализировать любое количество образцов, которые секвенировались в рамках одного запуска прибора. Для создания заявки на анализ данных необходимо: 1. Ввести информацию о запуске; 2. Добавить данные секвенирования; 3. Ввести информацию об образцах, которые соответствуют добавленным данным секвенирования.

Важно: крайне не рекомендуется в рамках одной заявки на анализ данных анализировать данные секвенирования с разных запусков одного или нескольких секвенаторов. Крайне рекомендуется в рамках одной заявки на анализ данных анализировать все данные, которые были получены в рамках одного запуска прибора с помощью наборов реагентов от ООО «ОНКОАТЛАС»; создание отдельных заявок на анализ данных на каждый отдельный образец не рекомендовано.

В новом окне заполнить дату секвенирования и выбрать из выпадающего окна платформу секвенирования.

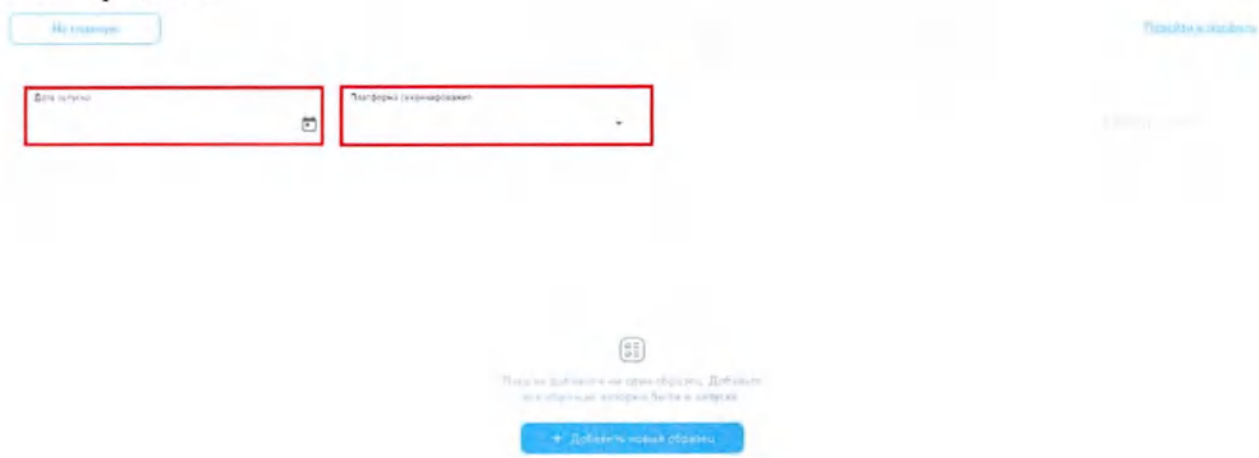


Рисунок 4. Заполнение информации о дате запуска и платформе секвенирования

Шаг 3. С помощью кнопки “Добавить новый образец” добавьте данные секвенирования

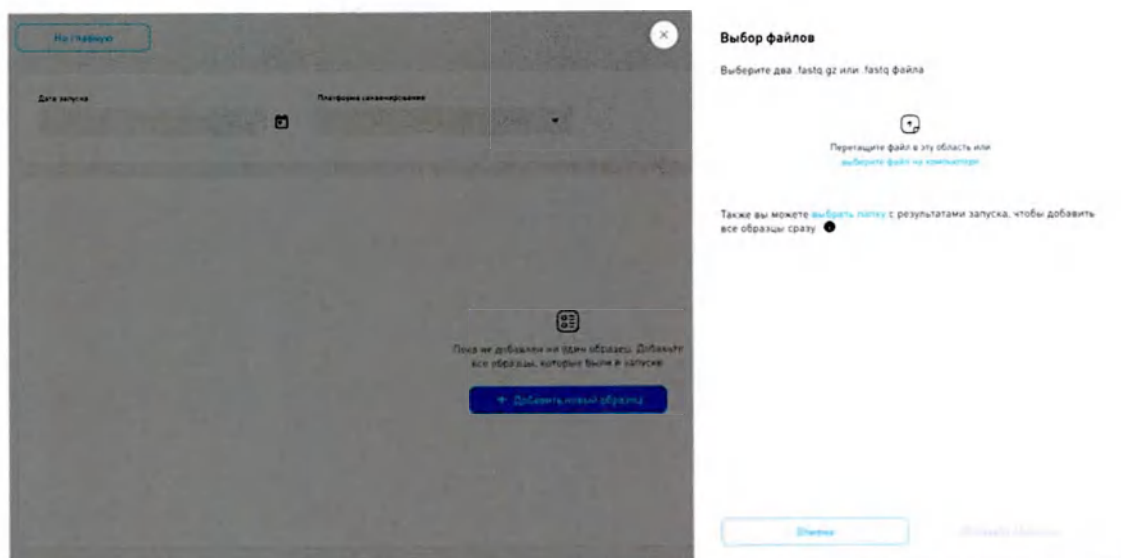


Рисунок 5. Окно добавления данных секвенирования

3.1 Возможно добавление отдельного образца. Для этого необходимо выбрать два .fastq файла с компьютера и нажать "Добавить образец"

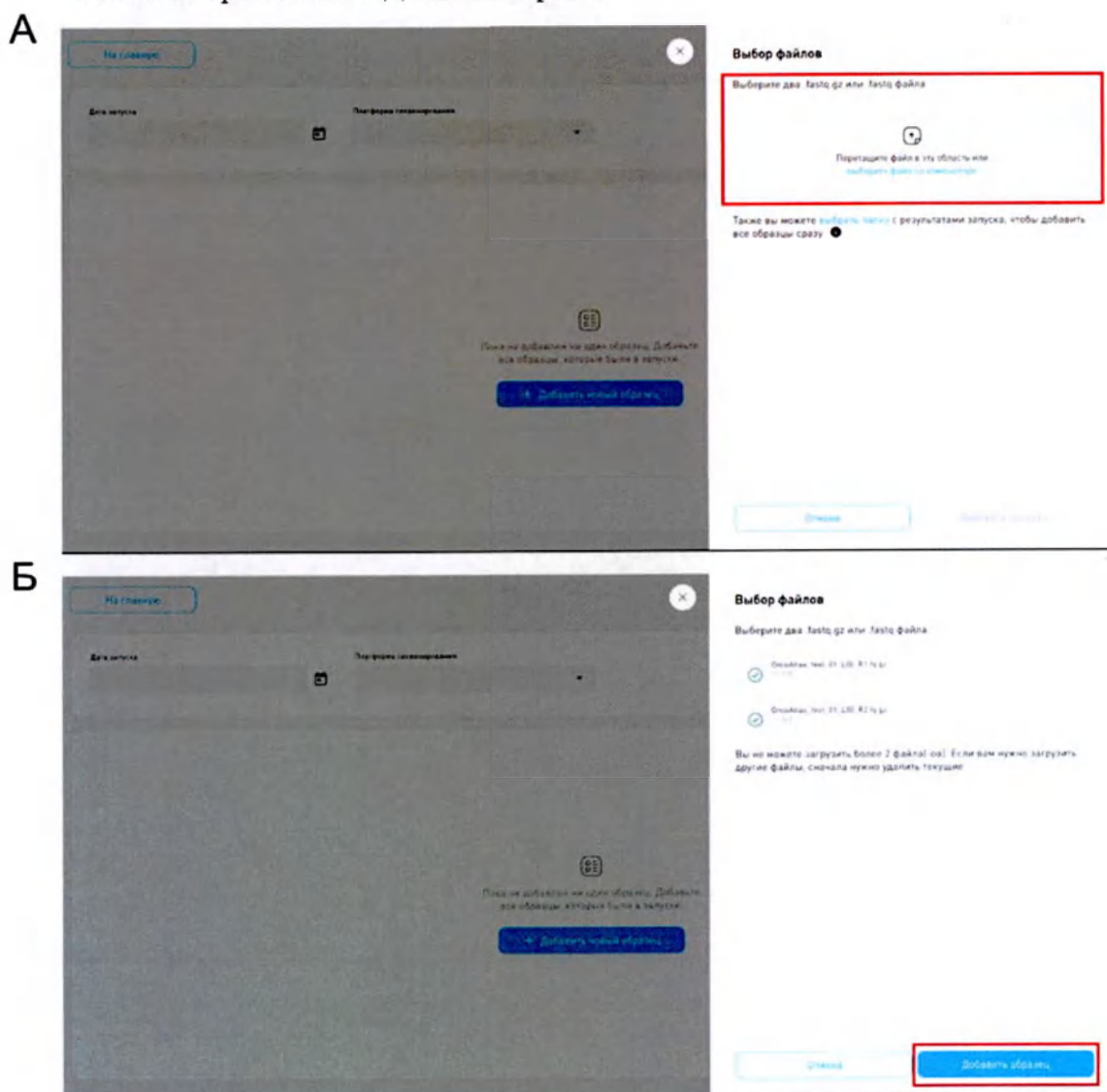
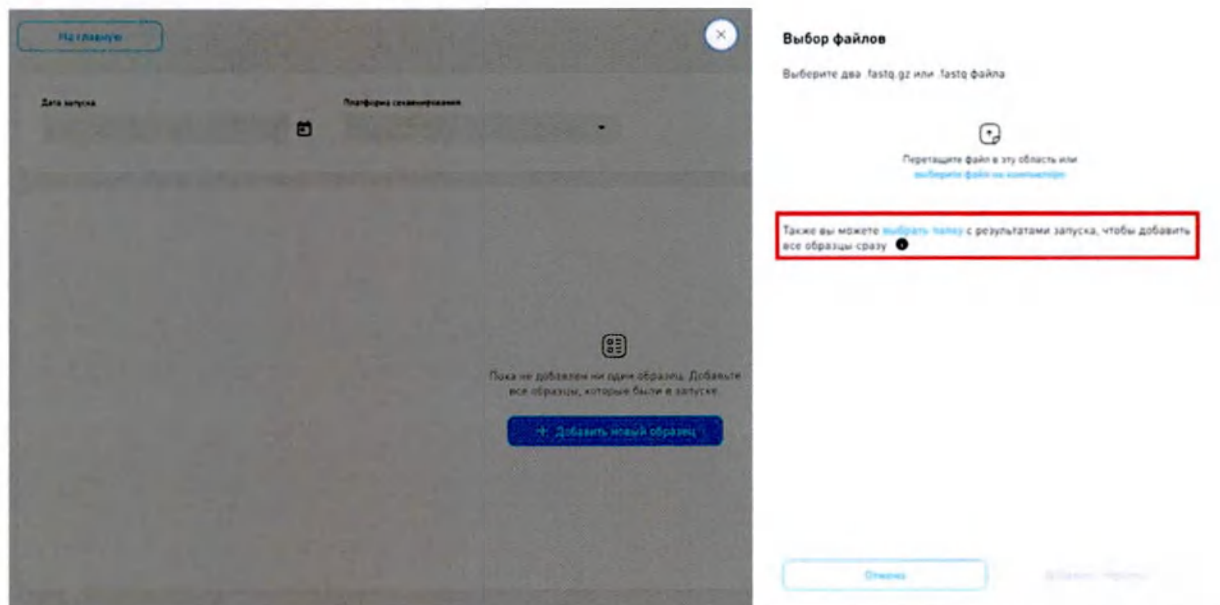


Рисунок 6. Добавление данных секвенирования одного образца. Красной рамкой выделены: А – область добавления .fastq файлов, Б – кнопка «Добавить образец»

3.2 Также возможно добавление всех образцов, которые были в запуске. Для этого необходимо нажать "выбрать папку", в открывшемся окне выбрать папку на компьютере с результатами секвенирования. После загрузки всех образцов нажать "Добавить образцы".

А



Б

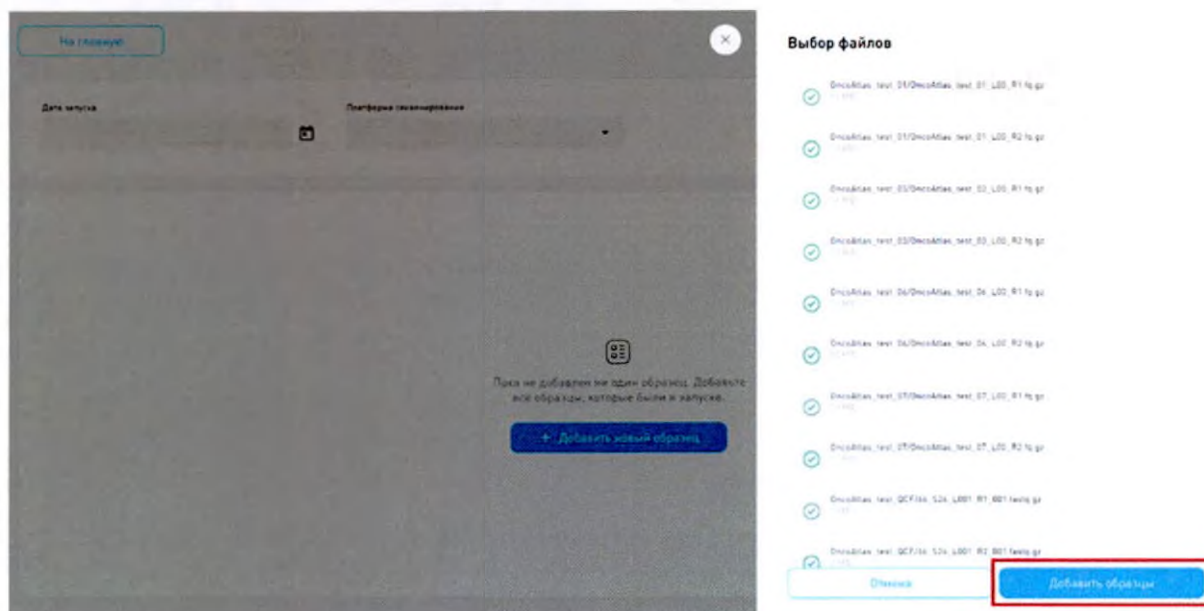


Рисунок 7. Добавление данных секвенирования всех образцов запуска. Красной рамкой выделены: А – область выбора папки, Б – кнопка «Добавить образец»

Если после выбора папки не было обнаружено данных секвенирования, необходимо перейти к шагу (3.1) и добавить каждый образец отдельно.

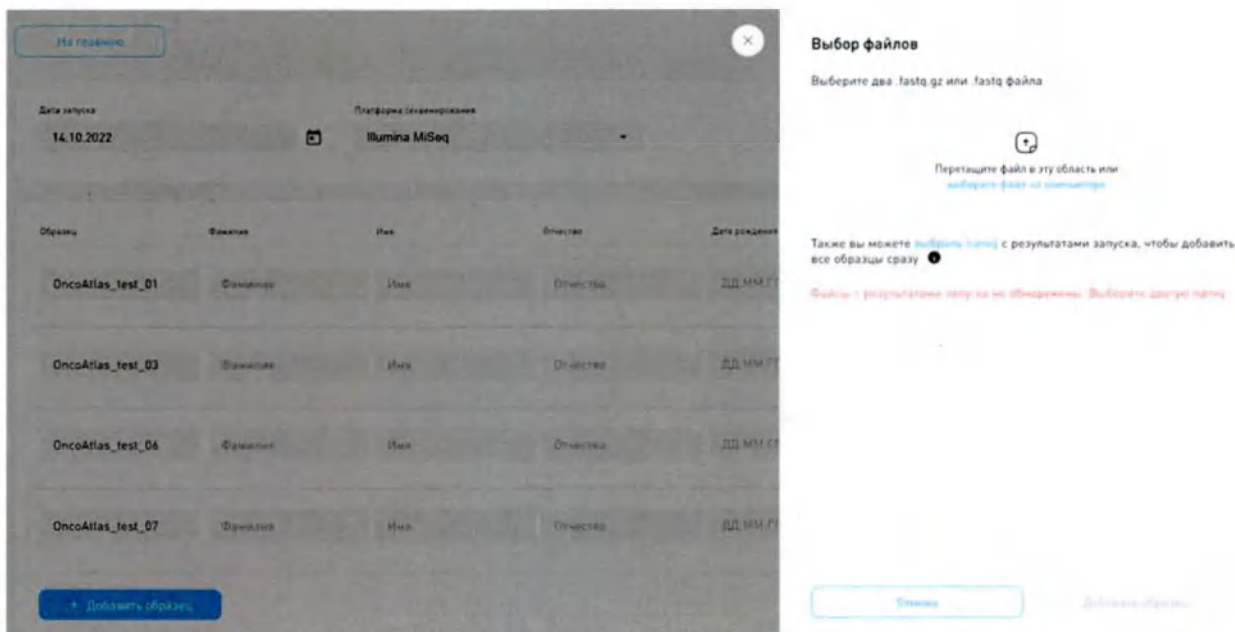


Рисунок 8. Возможное предупреждение о неудачной попытке добавления данных секвенирования всех образцов запуска

4. После шага 3 добавить дополнительные образцы, которые секвенировались в рамках одного запуска секвенатора, можно с помощью кнопки "Добавить образец". Рекомендуется в рамках одной заявки на анализ данных добавить все образцы, которые были в запуске, и которые секвенировались с помощью набора реагентов от компании ООО "ОНКОАТЛАС". В рамках одной заявки на анализ данных нельзя добавлять данные секвенирования с разных запусков одного прибора или разных приборов.

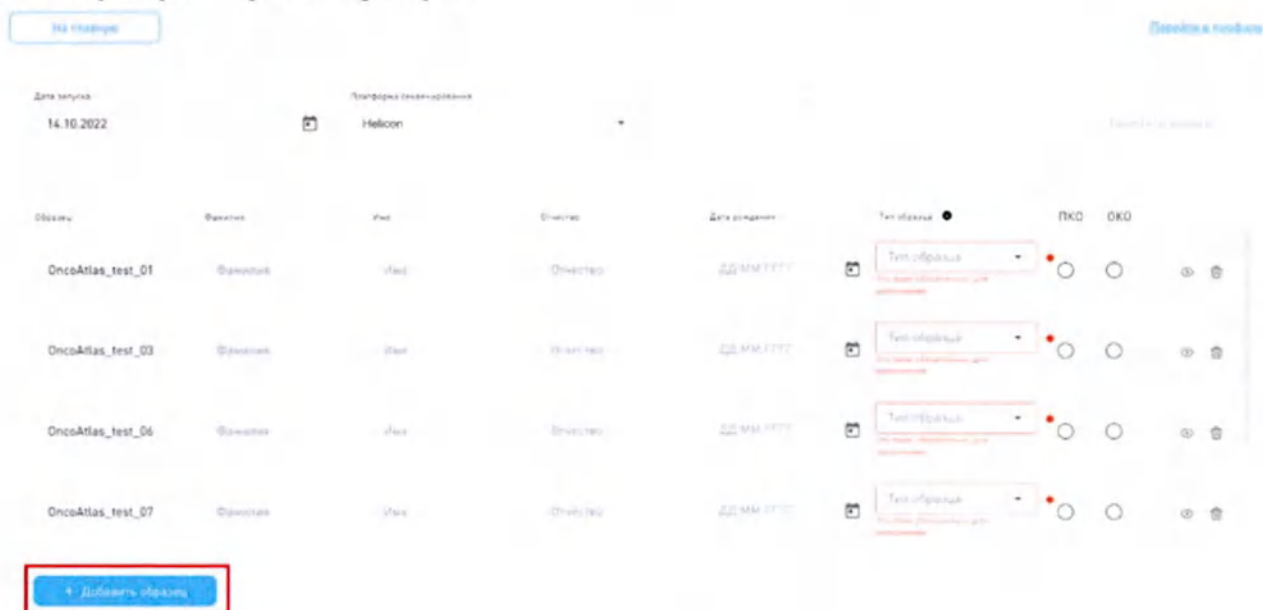


Рисунок 9. Добавление данных секвенирования дополнительных образцов

Шаг 5. Для каждого добавленного образца необходимо указать тип анализата (колонокка "Тип образца"):

- FFPE: ДНК, выделенная из FFPE материала
- WB: ДНК, выделенная из цельной крови (геномная ДНК)
- PLASMA: ДНК, выделенная из плазмы/сыворотки крови (свободно циркулирующая ДНК)

На главную

Перейти в профиль

Дата заявки

Платформа секвенирования

14.10.2022

Helicon

Запустить анализ

Образец	Фамилия	Имя	Отчество	Дата рождения	Тип образца	Заболевание	ПКО	ОКО
Sample1	Астахов	Константин	Константинович	19/03/1990	PLASMA	C22.1.C23-24	☐	☐
Sample2	Симоненко	Виталий	Сергеевич	02/05/1981	FFPE	C22.1.C23-24	☐	☐
Sample3	Карцман	Анастасия	Витальевна	03/02/1983	FFPE	C22.1.C23-24	☐	☐
OncoAtlas_test	Фамилия	Имя	Отчество	ДД.ММ.ГГ	Не указано	C22.1.C23-24	☒	☐
Sample4	Фамилия	Имя	Отчество	ДД.ММ.ГГ	Не указано	C22.1.C23-24	☐	☐

+ Добавить образец

Рисунок 10. Указание данных для каждого добавленного образца

Также для каждого образца рекомендовано (не обязательно) указать заболевание пациента (колонка “Заболевание”) – информация о заболевании используется в дальнейшем для интерпретации результатов анализа данных и генерации отчета.

Указание Фамилии, Имени, Отчества и Даты рождения не обязательно, но рекомендовано. Эта информация используется для: 1) генерации отчета 2) автоматического соотнесения данных секвенирования от одного пациента (в случае, если от одного пациента в рамках одного или нескольких запусков было проанализировано больше одного образца) 3) связи с ЛК врача и бесшовной отправкой отчета о секвенировании направляющему врачу.

Информацию о заболевании, ФИО, дате рождения пациента также можно указать после завершения анализа по заявке на анализ данных.

В колонке “ПКО” необходимо указать образец, который использовался как контрольный образец (КО). В рамках одной заявки на анализ данных может быть использован только один КО. Наличие КО не является обязательным для завершения заявки на анализ данных.

Важно: программное обеспечение “Solo AVES” позволяет анализировать данные, полученные с помощью тест-наборов, производителем которых является ООО “ОНКОАТЛАС”. ПО “Solo AVES” не предназначено для анализа данных, полученных с помощью наборов реагентов от других производителей. Конкретный набор реагентов, который использовался для секвенирования определяется в ходе анализа данных.

С помощью иконки “корзина” можно удалить образец из таблицы, если он был добавлен ошибочно. Удаленный образец можно добавить обратно с помощью шага (3.1). С помощью иконки “глаз” можно исключить образец из анализа, не удаляя его из таблицы – этот образец не будет включен в заявку на анализ данных.

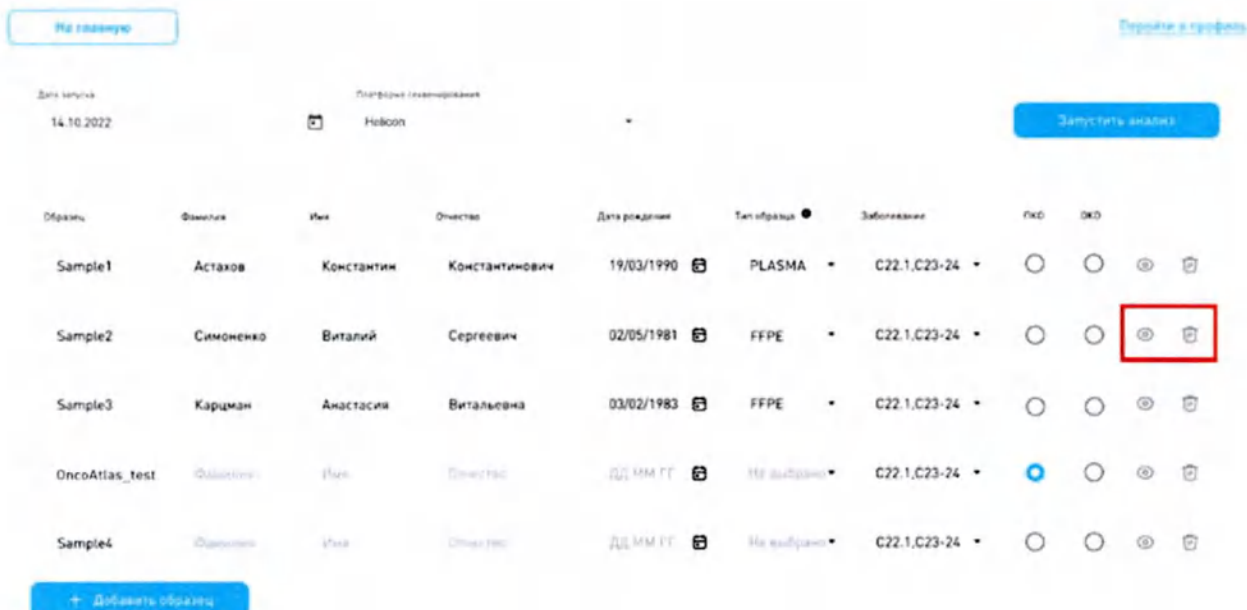


Рисунок 11. Удаление и исключение образца из анализа данных

Шаг 6. После завершения ввода информации запуск анализа осуществляется с помощью кнопки “Запустить анализ”

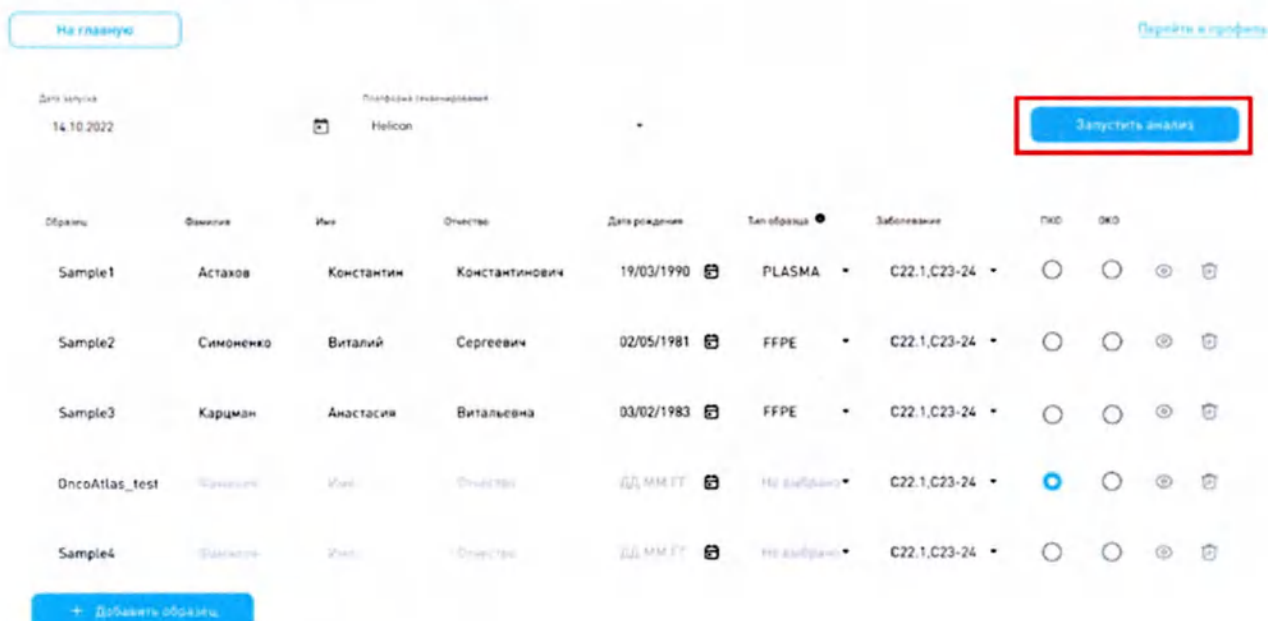


Рисунок 12. Запуск анализа данных

Шаг 7. После создания заявки на анализ данных, её статус можно посмотреть на главной странице на вкладке “Анализ данных”. Статус заявки указан в колонке “Статус”. После окончания анализа данных, заявка перейдет в статус “Анализ завершен”, который будет отображен в колонке статуса.

Запустить анализ данных

Просмотреть профиль

Заявки на тестирование Образцы **Анализ данных**

Дата запуска анализа	Дата завершения	Платформа	Статус	Всего образцов	Результ. QC	Версия платформы	
25.04.2023	25.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	6	6	2.12	
21.04.2023	21.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	1	0	2.12	
18.04.2023	18.04.2023	GeneMind GenoLab M	В очереди на анализ	4	4	2.12	
29.03.2023	29.03.2023	BGI DNBSEQ (MGISEQ)	Ошибка	3	3	2.12	
29.03.2023	03.03.2023	BGI DNBSEQ (MGISEQ)	Ошибка	1	1	2.12	
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	1
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	1
06.03.2023	06.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	1
06.03.2023	06.03.2023	Illumina MiSeq	Анализ завершен	46	46	2.12	1

1-30 из 44 данных + постранично

30 - результатов на страницу

Рисунок 13. Актуализация статуса заявки на анализ данных

4. Просмотр результатов анализа.

После завершения анализа данных результаты можно скачать на вкладке “Анализ данных” в виде таблицы .xlsx, либо в формате .pdf.

Запустить анализ данных

Просмотреть профиль

Заявки на тестирование Образцы **Анализ данных**

Дата запуска анализа	Дата завершения	Платформа	Статус	Всего образцов	Результ. QC	Версия платформы	
25.04.2023	25.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	6	6	2.12	
21.04.2023	21.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	1	0	2.12	
18.04.2023	18.04.2023	GeneMind GenoLab M	В очереди на анализ	4	4	2.12	
29.03.2023	29.03.2023	BGI DNBSEQ (MGISEQ)	Ошибка	3	3	2.12	
29.03.2023	03.03.2023	BGI DNBSEQ (MGISEQ)	Ошибка	1	1	2.12	
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	1
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	1
06.03.2023	06.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12	1
06.03.2023	06.03.2023	Illumina MiSeq	Анализ завершен	46	46	2.12	1

1-30 из 44 данных + постранично

30 - результатов на страницу

Скачать все отчеты
Скачать таблицу с результатами

Рисунок 14. Выгрузка данных после анализа

Таблица с результатами скачивается в формате .xlsx. В книге EXCEL присутствуют листы: “QC” и “result”. На листе “QC” отражены результаты анализа качества данных. В столбце “RESULT” указывается итоговый результат:

- PASS – образец прошел контроль качества данных
- FAIL* – образец не прошел контроль качества данных

* - в случае, если образец не прошел контроль качества данных, а КО образец в запуске прошел контроль качества, рекомендуется повторить исследование на другом биологическом материале этого же пациента.

Также на листе QC отражены контрольные метрики анализа качества данных:

- TotalReads – общее количество чтений
- ReadsPool1 – количество чтений в пуле 1 (для двухпульных панелей)
- ReadsPool2 – количество чтений в пуле 2 (для двухпульных панелей)
- Q30 – количество н.п. с качеством прочтения выше Q30
- OnTargetFraction – количество прочтений, картируемых на целевые области генома
- Uniformity – равномерность покрытия (процент целевых регионов с покрытием 0.2 и выше от среднего покрытия целевого региона)
- SensGermlineAC – интегральная расчетная чувствительность детектирования известных клинически-значимых (патогенных) наследственных мутаций-основателя (если панель их покрывает) (в соответствии с [Ivanov et al., 2019])
- SensGermlineHP – интегральная расчетная чувствительность детектирования известных распространенных наследственных генетических вариантов, которые могут быть ассоциированы с чувствительностью к терапии / повышенными рисками онкологических заболеваний (в соответствии с [Ivanov et al., 2019]).
- SensSomaticAC – интегральная расчетная чувствительность детектирования известных клинически-значимых соматических мутаций (в соответствии с [Ivanov et al., 2019])
- SensSomaticHP – интегральная расчетная чувствительность детектирования соматических мутаций в известных рекуррентных позициях соматического мутагенеза (хотспоты) (в соответствии с [Ivanov et al., 2019])
- Coverage – среднее покрытие целевого региона
- EvennessScore – равномерность покрытия (в соответствии с [Konrad Oexle, 2016])
- MAPD – равномерность покрытия (медиана абсолютных парных отклонений покрытия соседних ампликонов)
- CoveragePool1 - среднее покрытие целевого региона пула 1 (для двухпульных панелей)
- EvennessScorePool1 - равномерность покрытия пула 1 (в соответствии с [Konrad Oexle, 2016])
- MAPDPool1 - равномерность покрытия пула 1 (медиана абсолютных парных отклонений покрытия соседних ампликонов) (для двухпульных панелей)
- CoveragePool2 - среднее покрытие целевого региона пула 2 (для двухпульных панелей)
- EvennessScorePool2 - равномерность покрытия пула 2 (в соответствии с [Konrad Oexle, 2016]) (для двухпульных панелей)
- MAPDPool2 - равномерность покрытия пула 2 (медиана абсолютных парных отклонений покрытия соседних ампликонов) (для двухпульных панелей)

Зарегистрироваться

Лаборант Ольга Давыдова [Перейти к профилю](#)

Заявки на тестирование Образцы Анализ данных

Дата отправки анализа	Дата секвенирования	Платформа	Статус	Всего образцов	Прочитано (bp)	Версия пайплайна
25.04.2023	25.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	6	6	2.12
21.04.2023	21.04.2023	Illumina MiSeq	В очереди на анализ	1	0	2.12
18.04.2023	18.04.2023	GeneMind GenoLab M	В очереди на анализ	4	4	2.12
29.03.2023	29.03.2023	BGI DNBSSEQ (MGISEQ)	Ошибка	3	3	2.12
29.03.2023	03.03.2023	BGI DNBSSEQ (MGISEQ)	Ошибка	1	1	2.12
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12
07.03.2023	07.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.1
06.03.2023	06.03.2023	Helicon	Анализ завершен	46	46	2.12
06.03.2023	06.03.2023	Illumina MiSeq	Анализ завершен	46	46	2.12

1-30 из 44 данных + [показать все](#)

30 результатов на страницу

Скачать все отчеты
Скачать таблицу с результатами

Рисунок 17. Переход в профиль пользователя для настройки генерации отчета

5. Просмотр результатов анализа отдельного образца

Список проанализированных образцов доступен на вкладке "Образцы" главной страницы:

Новый анализ Аналитика [Перейти к профилю](#)

Заявки на секвенирование **Образцы** Анализы

[Архив образцов](#) Введите ФИО, панель, дату секвенирования или результат анализа

[Вывести данные в виде таблицы](#)

Образец	Панель	Контроль качества	Результат	Дата секвенирования	Версия пайплайна	
Sample_01 [UID: 57185-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3	
S3 [UID: 98314-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC	Не пройден	N/A	2022-04-15	2.1.3	
AOD_4 [UID: 16750-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	Atlas+	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3	
AOD_5 [UID: 59813-01-02] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	Atlas+	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3	
AOD_6 [UID: 59834-02-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC+	Не пройден	N/A	2022-04-15	2.1.3	

Рисунок 18. Вид списка проанализированных образцов

Скачать отчет в формате .pdf по отдельному образцу можно с помощью иконки "книга". Для перемещения образца в архив необходимо нажать иконку "корзина" (при переходе в архив образцов можно либо восстановить образец из архива, либо удалить его окончательно). Для детального просмотра и редактирования результатов анализа по образцу необходимо нажать иконку "глаз".

Новый анализ		Аналитика		Пациенты и профили	
Заявки на секвенирование		Образцы		Анализы	
Детальный просмотр		Введите FID, панель, дату секвенирования или результат анализа		Вывести данные в виде таблицы	
Образец	Панель	Контроль качества	Результат	Дата секвенирования	Версия пайплайна
Sample_01 [UID: 57185-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3
S3 [UID: 98314-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC	Не пройден	N/A	2022-04-15	2.1.3
AOD_4 [UID: 16750-01-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	Atlas+	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3
AOD_5 [UID: 59813-01-02] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	Atlas+	Пройден	Положительный	2022-04-15	2.1.3
AOD_6 [UID: 59834-02-01] Карцман Анна Олеговна, 1993-01-15	ABC+	Не пройден	N/A	2022-04-15	2.1.3

Рисунок 19. Возможные опции работы с результатом анализа отдельного образца: “книга” - скачать отчет в формате .pdf, “корзина” - перемещение образца в архив, “глаз” - детальный просмотр и редактирование результата анализа

Детальный просмотр результатов анализа образца позволяет редактировать результаты детектирования генетических вариантов, интерпретацию результатов, скачать результаты в формате .bam, просмотреть результаты в Genome Browser, а также редактировать информацию по образцу/пациенту с последующим обновлением генерируемого отчета.

Обратитесь к списку результатов

Перейти к профилю

Контроль качества пройден

Включить контроль качества

Включить контроль качества

Включить контроль качества

Включить контроль качества

SNV/indel

CNV

соматические

наследственные

клинически значимые

артефакты

Настроить анализ SNV/indel

Введите ген или вариант

Панель: Solo Atlas+

Секвенирование на Illumina NextSeq, 2022-04-14

Sample_01

Карцман Анна Олеговна, Ж, 1993-01-15

Тип образца: FFPE

Заболевание: Колоректальный рак

Дата исследования: 2022-04-14

Дата сбора материала: неизвестно

Источник биоматериала: кровь

Маркировка материала: 27243/A22

Диагноз: C20 Рак прямой кишки, умеренно-дифференцированная аденокарцинома T4aN0M0, IVB стадии.

Редактировать

Генерация отчета

Отправить отчет

Вариант

Ген

MAF

VAF/CN

PVAL

0aF/D/L1

BRAF

chr7:140453136-1 (hg19) / экзон

ENST00000288602 p.Val600Glu

ENST00000288602 c.1799T>A

3.9e-6%

34%

2636

L1

Микросателлитная нестабильность

2605

LeF/D

TP53

chr17:7571320-5C (hg19) / фреймшифт

ENST00000249305 p.Ser156GlnfsTer43

ENST00000249305 c.314del

0

10%

3234

LeF/D

PTEN

chr10:89482700-01 (hg19) / фреймшифт

ENST00000371953 p.Leu539PhefsTer6

ENST00000371953 c.170del

0

13%

6358

LeF/D

PTEN

chr10:89482700-01 (hg19) / фреймшифт

ENST00000371953 p.Pro103ThrfsTer6

ENST00000371953 c.304del

0

14%

3575

Предпочтительный маркер: M3 F0 L1

Детальный просмотр: 0

Природа варианта

соматический

Эффект варианта

активирующий [0aF]

VAF - 34% (AD - 3408, DP - 18021), Частота в моих образцах - 1% (10 / 1621)

dbSNP

COSMIC

GNOMAD

SIFT

CADD

MuPred

spliceAI

chr17:7571320-5C

COSV54056443

3.9e-6%

D

D

N

N

окружение варианта (hg19)

GGGCTAGTACCAACT...AGGTCTATCCCGATCCAG

ампликоны

Просмотреть в IGV

Скачать в IGV

Скачать в IGV

Изменить интерпретацию

Рисунок 20. Пример детального просмотра результатов анализа образца

Редактирование информации по образцу/пациенту доступно в правой верхней панели с помощью кнопки "Редактировать". В открывшемся окне необходимо обновить информацию и нажать кнопку "Сохранить". Введенные данные будут отображены в отчете после его новой генерации.

- [PgX]: генетический вариант ассоциирован с токсичностью противоопухолевой терапии или незначимым снижением её эффективности (фармакогенетический маркер)
- [R]: генетический вариант не ассоциирован с развитием наследственного опухолевого синдрома, но приводит к статистически-значимому повышению риска онкологических заболеваний (риск-фактор)
- [D]: молекулярная альтерация потенциально является (или может являться) драйверным событием в канцерогенезе (относится к повреждающим вариантам в генах опухолевой супрессии или активирующим вариантам в онкогенах)
- [GoF]: молекулярная альтерация приводит к значительному повышению активности продукта гена (активирующий вариант / gain of function).
- [LoF]: молекулярная альтерация приводит к значительному снижению активности продукта гена (повреждающий вариант / loss of function).
- [N]: молекулярная альтерация не приводит к изменению активности продукта гена

В колонке "Ген" также указывается потенциальная природа молекулярной альтерации (наследственный/соматический). Определение природы молекулярной альтерации осуществляется в случае, если анализом является ДНК, выделенная из биологического материала, в котором могут обнаруживаться соматические варианты (FFPE/PLASMA). Анализ проводится с помощью методов машинного обучения на основании нескольких параметров, среди которых:

- Наличие варианта в базах данных наследственных генетических вариантов и соматических мутаций, а также популяционная частота генетического варианта в случае, если ранее он уже был обнаружен в рамках крупных геномных проектов
- Частота обнаружения варианта в образцах FFPE и цельной крови по аккаунту
- Частота альтернативного аллеля конкретного варианта в чтениях, покрывающих сайт варианта
- Частота альтернативного аллеля близлежащих полиморфизмов
- Вероятность полной делеции гена (LoH) в части опухолевых клеток
- Вероятность происхождения конкретной нуклеотидной замены в соматическом или наследственном статусе
- Априорная вероятность обнаружения соматического или наследственного повреждающего (или активирующего) варианта в конкретном генетическом
- Частота альтернативного аллеля прочих достоверно соматических и достоверно наследственных генетических вариантов в опухолевом образце

В случае, если по результатам биоинформатического анализа вариант с вероятностью 95% и более является наследственным, то в результатах анализа будет отмечено, что вариант является наследственным. В случае, если по результатам биоинформатического анализа вариант с вероятностью 95% и более является соматическим, то в результатах анализа будет отмечено, что вариант является соматическим. В остальных случаях в результатах анализа будет отмечено, что наследственную/соматическую природу варианта достоверно определить нельзя.

В случае, если для пациента ранее уже были получены данные секвенирования крови, автоматически проводится сопоставление обнаруженных ранее в крови генетических вариантов и природа варианта определяется достоверно на основании сравнения с нормальной тканью. Достоверность определения природы варианта отображается в генерируемом отчете формата .pdf

Наличие иконки "огонь" рядом с природой варианта в колонке "Ген" означает, что вариант является мутацией основателя (для наследственных вариантов) или располагается в позиции рекуррентного соматического мутагенеза / хотспот вариант (для соматических вариантов).

Контроль качества пройден
[Возврат к списку данных](#) [Возврат к панели фильтров](#) [Справка](#)

Панель: Solo Atlas+
 Секвенирование на Illumina NextSeq, 2022-04-14

☒ SNV/indel ☒ CNV ☒ соматические ☒ наследственные ☐ клинически незначимые ☐ артефакты

[Настроить видимость SNV/indel](#) [Введите ген или вариант](#) 🔍

Значимость	Ген	MAF	VAR/CN	PVAL
GoF/D/L1	BRAF сnv17:1404537136A-T (hg19) / формат: ENST00000288602 p.Val600Glu ENST00000288602 c.1799T>A	3.9e-6%	34%	2636
L1	Микросателлитная нестабильность			2605
LoF/D	TP53 сnv17:157937026-GC (hg19) / формат: ENST00000249305 p.Ser104Gln;Ter43 ENST00000249305 c.314dup	0	10%	3234
LoF/D	PTEN сnv10:894857950-GT (hg19) / формат: ENST00000371953 p.Leu57Phe;Ter6 ENST00000371953 c.170dup	0	13%	6358
LoF/D	PTEN сnv10:894857950-GC (hg19) / формат: ENST00000371953 p.Pro103Thr;Ter4 ENST00000371953 c.306dup	0	14%	3575

Sample_01
 Карцова Анна Олеговна, Ж, 1993-01-15
 Тип образца: FFPE
 Заболевание: Колоректальный рак
 Дата исследования: 2022-04-14
 Источник биоматериала: кишка
 Дата забора материала: неизвестно
 Маркировка материала: 27243/A22
 Диагноз: C20 Рак прямой кишки, умеренно-дифференцированная аденокарцинома T4aN0M0, IVB стадия.

[Редактировать](#) [Генерация отчета](#) [Отправить врачу](#)

Предпочтительный маркер: M3 PF (L1) **Драйверный вариант: (D)**

Природа варианта: **соматический**
 Эффект варианта: **активирующий [GoF]**
 VAF - 34% (AD - 3408, DP - 10021); Частота в моих образцах - 1% (10 / 1021)

dbSNP: COSMIC: GNMAD: SIFT: CADD: MutPred: spliceAI
 c.1799T>A: COSV54056443: 3.9e-6%: D: D: N: N

окружение варианта (hg19): GGGCTCTAGTTACGAACTT>AGGCTATCCCGATCCAG
 ампликоны

[Полные результаты колонки](#) [Смотреть в IGV](#)
[Смотреть в детали браузера](#)

[Изменить интерпретацию](#)

Рисунок 23. Пример обозначения символом “огонь” варианта-мутации основателя (для наследственных вариантов) или варианта, расположенного в позиции рекуррентного соматического мутагенеза / хотспот вариант (для соматических вариантов)

Панель фильтрации молекулярных альтераций позволяет отобрать варианты, которые будут отображены в основной таблице

Контроль качества пройден
[Возврат к списку данных](#) [Возврат к панели фильтров](#) [Справка](#)

Панель: Solo Atlas+
 Секвенирование на Illumina NextSeq, 2022-04-14

☒ SNV/indel ☒ CNV ☒ соматические ☒ наследственные ☐ клинически незначимые ☐ артефакты

[Настроить видимость SNV/indel](#) [Введите ген или вариант](#) 🔍

Значимость	Ген	MAF	VAR/CN	PVAL
GoF/D/L1	BRAF сnv17:1404537136A-T (hg19) / формат: ENST00000288602 p.Val600Glu ENST00000288602 c.1799T>A	3.9e-6%	34%	2636
L1	Микросателлитная нестабильность			2605
LoF/D	TP53 сnv17:157937026-GC (hg19) / формат: ENST00000249305 p.Ser104Gln;Ter43 ENST00000249305 c.314dup	0	10%	3234
LoF/D	PTEN сnv10:894857950-GT (hg19) / формат: ENST00000371953 p.Leu57Phe;Ter6 ENST00000371953 c.170dup	0	13%	6358
LoF/D	PTEN сnv10:894857950-GC (hg19) / формат: ENST00000371953 p.Pro103Thr;Ter4 ENST00000371953 c.306dup	0	14%	3575

Sample_01
 Карцова Анна Олеговна, Ж, 1993-01-15
 Тип образца: FFPE
 Заболевание: Колоректальный рак
 Дата исследования: 2022-04-14
 Источник биоматериала: кишка
 Дата забора материала: неизвестно
 Маркировка материала: 27243/A22
 Диагноз: C20 Рак прямой кишки, умеренно-дифференцированная аденокарцинома T4aN0M0, IVB стадия.

[Редактировать](#) [Генерация отчета](#) [Отправить врачу](#)

Предпочтительный маркер: M3 PF (L1) **Драйверный вариант: (D)**

Природа варианта: **соматический**
 Эффект варианта: **активирующий [GoF]**
 VAF - 34% (AD - 3408, DP - 10021); Частота в моих образцах - 1% (10 / 1021)

dbSNP: COSMIC: GNMAD: SIFT: CADD: MutPred: spliceAI
 c.1799T>A: COSV54056443: 3.9e-6%: D: D: N: N

окружение варианта (hg19): GGGCTCTAGTTACGAACTT>AGGCTATCCCGATCCAG
 ампликоны

[Полные результаты колонки](#) [Смотреть в IGV](#)
[Смотреть в детали браузера](#)

[Изменить интерпретацию](#)

Рисунок 24. Панель фильтрации молекулярных альтераций (обозначена красной рамкой)

Нажатие на строку конкретной молекулярной альтерации в основной таблице позволяет просмотреть детальную информацию по качеству детектирования этого варианта, а также его аннотацию в правой нижней панели.

[Обратно к списку результатов](#)

Контроль качества пройден

[Настроить панель фильтров](#)
[Введите / выберите вариант](#)

☒ SNV/indel
 ☒ CNV
 ☒ соматические
 ☒ наследственные
 ☐ клинически незначимые
 ☐ артефакты

Панель: Solo Atlas+

Секвенирование на Illumina NextSeq, 2022-04-14

Sample_01

Карцова Анна Олеговна, Ж, 1993-01-15

Тип образца: FFPE

Заболевание: Колоректальный рак

Дата исследования: 2022-04-14

Источник биоматериала: клиника

Дата забора материала: неизвестно

Маркировка материала: 27243/A22

Диагно: C20 Рак прямой кишки, умеренно-дифференцированная аденокарцинома T4aN0M0, IIB стадия

Редактировать

Генерация отчета

Отправить врачу

Значимость	Ген	MAF	MAF/CN	PIAC
GoF/D/L1	BRAF с.1799T>A с.1799T>A / соматический ENST00000288602 p.Val600Glu ENST00000288602 c.1799T>A	3.9e-6%	34%	2636
L1	Микросателлитная нестабильность			2605
LoF/D	TP53 с.314dup с.314dup / соматический ENST00000249305 p.Ser104GlnsTer43 ENST00000249305 c.314dup	0	10%	3234
LoF/D	PTEN с.170dup с.170dup / соматический ENST00000371953 p.Leu57PhefsTer6 ENST00000371953 c.170dup	0	13%	6358
LoF/D	PTEN с.384dup с.384dup / соматический ENST00000371953 p.Pro137TerfsTer4 ENST00000371953 c.384dup	0	14%	3575

Предиктивный маркер: M3 Pф (L1)

Детальный вариант: ID

Природа варианта: соматический

Эффект варианта: активирующий [GoF]

dbSNP

rs12381264

COSMIC

COSV5686443

GNOMAD

0.003%

SIFT

D

CADD

D

MutPred

D

CHASM

D

около 34% (AD - 3408, DP - 10021); Частота в моих образцах - 1% (10 / 1021)

около 34% (AD - 3408, DP - 10021); Частота в моих образцах - 1% (10 / 1021)

окружение варианта [hg19]

GGGCTCTAGTTACGAACTAGGTCTATCCCGATCCAG

ампликоны

[Подробнее результаты копирования](#)
[Смотреть в IGV](#)

[Смотреть в genome browser](#)

Изменить интерпретацию

Рисунок 25. Пример детальной информации о качестве детектирования варианта и его аннотация (выделены красной рамкой)

Нажатие кнопки "Изменить интерпретацию" в правой нижней панели позволяет изменить природу варианта (наследственный / соматический / артефакт) и биологический эффект вариант (LoF/GoF/N). После выбора новых значений необходимо нажать кнопку "сохранить". В основной таблице с помощью панели фильтрации молекулярных альтераций можно отобразить кандидаты в генетические варианты, которые по результатам биоинформатического анализа были признаны артефактами. Изменение природы варианта с "артефакт" на "наследственный"/"соматический" и обратно позволяет редактировать результаты детектирования генетических вариантов. После внесения изменений необходимо нажать кнопку "Генерация отчета" в правой верхней панели для того, чтобы сформировать новый отчет в соответствии с введенными изменениями в результаты детектирования генетических вариантов и/или их интерпретации.

Предиктивный маркер: M3 Pф (L1)

Ассоциирован с HOC (P)

Природа варианта: соматический

Эффект варианта: повреждающий [LoF]

dbSNP

rs12381264

COSMIC

COSV63186428

GNOMAD

0.003%

SIFT4G

D

CADD

D

MutPred

D

CHASM

D

около 34% (AD - 3408, DP - 10021); Частота в моих образцах - 1% (10 / 1021)

около 34% (AD - 3408, DP - 10021); Частота в моих образцах - 1% (10 / 1021)

окружение варианта [hg19]

GGGCTCTAGTTACGAACTAGGTCTATCCCGATCCAG

ампликоны

[Подробнее результаты копирования](#)
[Смотреть в IGV](#)

[Смотреть в genome browser](#)

Отмена

Сохранить

Рисунок 26. Пример окна с детальной информацией о качестве детектирования варианта и его аннотацией в режиме редактирования

Детальный просмотр результатов анализа качества данных доступен в левой верхней панели.

[Обратно к списку результатов](#)

[Перейти в профиль](#)

Контроль качества пройден

[Посмотреть все данные](#)
[Запустить анализ](#)
[Справка](#)

Панель: Solo Atlas+

Секвенирование на Illumina NextSeq, 2022-04-14

☒ SNV/indel
 ☒ CNV
 ☒ соматические
 ☒ наследственные
 ☐ клинически незначимые
 ☐ артефакты

[Настроить панель SNV/indel](#)
[Введите ген или вариант](#)

Значимость

Ген

MAF

RAF/CN

PMEL

0eF/D/L1	BRAF соматический	chr7:160533336-1 (hg19) / микротел ENST00000288602 p.Val600Glu ENST00000288602 c.1799T>A	3.9e-6%	34%	2636
L1	Микросателлитная нестабильность				2605
LeF/D	TP53 соматический	chr17:7574725-62 (hg19) / фреймшифт ENST00000249305 p.Ser104GlnfsTer43 ENST00000249305 c.314dup	0	10%	3234
LeF/D	PTEN соматический	chr10:89482700-01 (hg19) / фреймшифт ENST00000271953 p.Leu57PhefsTer6 ENST00000271953 c.170dup	0	13%	6358
LeF/D	PTEN соматический	chr10:89492819C>CA (hg19) / фреймшифт ENST00000271953 p.Pro103ThrfsTer4 ENST00000271953 c.306dup	0	14%	3575

Sample_01

Карцова Анна Олеговна, Ж, 1993-01-15

Тип образца: FFPE

Заболевание: Колоректальный рак

Дата исследования: 2022-04-14

Источник биоматериала: кишка

Диагноз: C20 Рак прямой кишки, умеренно-дифференцированная аденокарцинома T4aN0M0, 98 стадия.

Дата забора материала: неизвестно

Маркировка материала: 27243/A22

[Редактировать](#)
[Генерация отчета](#)
[Отправить врачу](#)

Подтверждение панели: M3 P3 B1

Диагностический вариант: D1

Природа варианта: соматический

Эффект варианта: активирующий (Gof)

RAF - 34% (AD - 3408, DP - 10021), Частота в моих образцах - 1% (10 / 1021)

dbSNP	COSSMIC	GNOMAD	SIFT	CADD	MutPred	spliceAI
c.1799T>A	COSSV6056443	1/10000	D	D	N	N

окружение варианта (hg19)

GGGCTTAGTTACGAACCTAGGTCTATCCCGATCCAG

ампликоны

[Посмотреть результаты картирования](#)
[Смотреть в genome browser](#)

[Изменить интерпретацию](#)

Рисунок 27. Пример детального просмотра результатов анализа качества данных (выделен красной рамкой)

- После завершения работы ПО «Solo AVES» результаты анализа сохраняются в виде отчетов формата .pdf по каждому образцу. Каждый отчет по отдельному образцу будет иметь название вида SampleName.pdf, где SampleName - имя образца, указанное при его добавлении в окне 'запустить анализ данных'. Открыть отчет по образцу можно с помощью любой программы для просмотра .pdf файлов (например, Adobe Acrobat Reader версии 22 и выше).
- В отчете по каждому образцу указывается информация об обнаруженных генетических вариантах в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA (см. рисунок 28), а также информация о контрольных метриках качества набора прочтений, включая такие показатели как: интегральная расчетная чувствительность детектирования рекуррентных генетических вариантов, равномерность покрытия пула (униформность), средняя глубина покрытия пула.

Результаты молекулярно-генетического исследования методом NGS

oncoatlas

Направляющий врач

нет информации

Образец

Тип образца: FFPE материал
 Источник биоматериала: нет информации
 Дата забора материала: нет информации
 Идентификатор материала: нет информации

Пациент

нет информации
 Дата рождения: нет информации
 Заболевания: нет информации

Результат: Положительный

Обнаруженные генетические варианты:

BRCA2	chr13:32914529A>T [hg19] ENST00000380152:c.6037A>T ENST00000380152:p.Lys2013Ter rs80358840	Обнаруживается с частотой альтернативного аллеля 48%
-------	---	---

Описание исследования:

Исследование выполнено с помощью набора реагентов "HELICON® ABC Плюс" (производитель ООО "ОнкоАтлас", г.Москва)

Качество данных:

Биоинформатический контроль качества пройден. Глубина покрытия: 5368x (пул 1 – 5604x, пул 2 – 5132x); униформность (MAPD): 1.527 (пул 1 – 1.501; пул 2 – 1.527); расчетная чувствительность: 100%

Отчет предназначен для использования специалистами в области клинической онкологии и/или генетики

Рисунок 28. Пример отчета, сгенерированного по результатам анализа данных в ПО "Solo AVES" (Образец №6 из тестового набора данных. Красным выделены основные элементы отчета. В разделе "Обнаруженные генетические варианты" приводится список обнаруженных генетических вариантов. В разделе "Качество данных" приводятся контрольные метрики качества данных высокопроизводительного секвенирования)

8. Интерпретация результатов

Результаты считаются валидными, если следующие метрики качества данных секвенирования для каждого исследуемого образца соответствуют заявленным (см. рис.29). Контрольные метрики качества рассчитываются с помощью ПО "Solo AVES" <https://aves.oncoatlas.ru/>, версия 1.03.04 от 04.02.2023, и приводятся в .pdf отчете в разделе "качество данных" (см. рисунок 28).

	Интегральная расчетная чувствительность детектирования рекуррентных генетических вариантов	Равномерность покрытия в пуле (униформность) (максимальное значение)	Средняя глубина покрытия пула (минимальное значение)
Контрольные метрики качества данных секвенирования при анализе образцов ДНК, выделенных из операционного (биопсийного) материала пациента фиксированного в формалине и заключенного в парафин (FFPE)			
BRCA1	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
BRCA2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
CHEK2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
ATM	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
PALB2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
PIK3CA	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
Контрольные метрики качества данных секвенирования при анализе образцов ДНК, выделенной из плазмы крови пациента ("жидкостная биопсия")			
PIK3CA	не менее 0.99	не более 3	не менее 5000x
Контрольные метрики качества данных секвенирования при анализе образцов ДНК, выделенной цельной крови			
BRCA1	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
BRCA2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
CHEK2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
ATM	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x
PALB2	не менее 0.96	не более 3	не менее 5000x

Рисунок 29. Контрольные метрики качества данных секвенирования

VI. Транспортировка и хранение

Наборы реагентов могут транспортироваться всеми видами крытого транспорта при температуре 2-8°C в течение 6 часов. При более длительной транспортировке наборы должны транспортироваться при температуре от минус 22 до минус 20° (при использовании хладоэлементов (- 20°C)).

Наборы реагентов транспортируются всеми видами крытого транспорта при температуре от минус 22 до минус 20°C при использовании хладоэлементов (- 20°C) в течение суток.

После получения наборы реагентов должны храниться при температуре от минус 22 до минус 20 °C в течение всего срока годности. «Комплект для целевого обогащения ДНК» должен храниться в зоне «пре-ПЦР» (при температуре минус 22 до минус 20°C), а «Комплект для приготовления библиотек ДНК» (при температуре минус 22 до минус 20°C) и «Комплект для циркуляризации библиотек» (при температуре минус 22 до минус 20°C) должны храниться в зоне «пост-ПЦР». Магнитные частицы из

комплекта для приготовления библиотек должны храниться при температуре от минус 22 до минус 20°C до первого вскрытия – после него при температуре 2-8°C в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня приемки ОТК предприятия-изготовителя. Набор с истекшим сроком годности применению не подлежит. Срок годности и условия хранения вскрытых реагентов соответствуют сроку годности и условиям хранения, указанным на этикетках для невскрытых реагентов.

Полная инструкция по применению предоставляется на бумажном носителе отдельно от медицинского изделия (по запросу пользователя), а также в форме электронного документа, размещенного в сети Интернет по QR-коду:



Производитель: ООО «ОНКОАТЛАС»

Юридический адрес:

Российская Федерация, г.Москва, вн.тер.г. Муниципальный Округ Якиманка, пр-кт Ленинский, д. 4, стр. 1А, помещ. 2/2

e-mail: solo@oncoatlas.ru

<http://oncoatlas.ru/abcplusm>

Приложение 1. Таблица соответствия адаптеров исследуемым образцам.

«HELICON® ABC Плюс С-А», «HELICON® ABC Плюс А»			«HELICON® ABC Плюс С-Б», «HELICON® ABC Плюс Б»		
№ образца	Название образца	Адаптер	№ образца	Название образца	Адаптер
1		Адаптер 1	1		Адаптер 89
2		Адаптер 2	2		Адаптер 90
3		Адаптер 3	3		Адаптер 91
4		Адаптер 4	4		Адаптер 92
5		Адаптер 13	5		Адаптер 93
6		Адаптер 14	6		Адаптер 94
7		Адаптер 15	7		Адаптер 95
8		Адаптер 16	8		Адаптер 96
9		Адаптер 41	9		Адаптер 97
10		Адаптер 42	10		Адаптер 98
11		Адаптер 43	11		Адаптер 99
12		Адаптер 44	12		Адаптер 100
13		Адаптер 45	13		Адаптер 101
14		Адаптер 46	14		Адаптер 102
15		Адаптер 47	15		Адаптер 103
16		Адаптер 48	16		Адаптер 104
17		Адаптер 57	17		Адаптер 121
18		Адаптер 58	18		Адаптер 122
19		Адаптер 59	19		Адаптер 123
20		Адаптер 60	20		Адаптер 124
21		Адаптер 61	21		Адаптер 125
22		Адаптер 62	22		Адаптер 126
23		Адаптер 63	23		Адаптер 127
24		Адаптер 64	24		Адаптер 128
25		Адаптер 65	25		Адаптер 25
26		Адаптер 66	26		Адаптер 26
27		Адаптер 67	27		Адаптер 117
28		Адаптер 68	28		Адаптер 28
29		Адаптер 69	29		Адаптер 29
30		Адаптер 70	30		Адаптер 30
31		Адаптер 71	31		Адаптер 114
32		Адаптер 72	32		Адаптер 32
33		Адаптер 73	33		Адаптер 33
34		Адаптер 74	34		Адаптер 34
35		Адаптер 75	35		Адаптер 35
36		Адаптер 76	36		Адаптер 36
37		Адаптер 77	37		Адаптер 37
38		Адаптер 78	38		Адаптер 38
39		Адаптер 79	39		Адаптер 39
40		Адаптер 80	40		Адаптер 115
41		Адаптер 81	41		Адаптер 49
42		Адаптер 82	42		Адаптер 50
43		Адаптер 83	43		Адаптер 51
44		Адаптер 84	44		Адаптер 52
45		Адаптер 85	45		Адаптер 53
46		Адаптер 86	46		Адаптер 116
47		Адаптер 87	47		Адаптер 55
48		Адаптер 88	48		Адаптер 56

Схема расположения адаптеров в плашке для вариантов исполнения: «HELICON® ABC Плюс С-А»,
«HELICON® ABC Плюс А»

	1	2	3	4	5	6
A	01	41	57	65	73	81
B	02	42	58	66	74	82
C	03	43	59	67	75	83
D	04	44	60	68	76	84
E	13	45	61	69	77	85
F	14	46	62	70	78	86
G	15	47	63	71	79	87
H	16	48	64	72	80	88

Схема расположения адаптеров в плашке для вариантов исполнения: «HELICON® ABC Плюс С-Б»,
«HELICON® ABC Плюс Б»

	1	2	3	4	5	6
A	89	97	121	25	33	49
B	90	98	122	26	34	50
C	91	99	123	117	35	51
D	92	100	124	28	36	52
E	93	101	125	29	37	53
F	94	102	126	30	38	116
G	95	103	127	114	39	55
H	96	104	128	32	115	56

Прошнуровано и
пронумеровано 44 листа.



ПАСПОРТ № 1

на медицинское изделие

«Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс) по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023»

Вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс C-A»	Номер серии 09CM24-1	Дата изготовления 06.03.2024
		Срок годности 06.03.2025

Состав набора:

Комплект для целевого обогащения ДНК:

Название	Объем	Количество
Раствор праймеров 1	240 мкл	1 пробирка
Раствор праймеров 2	240 мкл	1 пробирка
ПЦР-смесь 1	192 мкл	1 пробирка
КО	24 мкл	1 пробирка

Комплект для приготовления библиотек:

Название	Объем	Количество
Активатор	96 мкл	1 пробирка
Раствор Л	192 мкл	1 пробирка
ДНК-лигаза	96 мкл	1 пробирка
Магнитные частицы	3840 мкл	1 пробирка
Реагент В	4500 мкл	1 пробирка
Раствор праймеров 3	192 мкл	1 пробирка
ТЕ буфер	4500 мкл	1 пробирка
ПЦР-смесь 2	2 × 1152 мкл	2 пробирки
Адаптер 1	2 мкл	A1 лунка в плашке
Адаптер 2	2 мкл	B1 лунка в плашке
Адаптер 3	2 мкл	C1 лунка в плашке
Адаптер 4	2 мкл	D1 лунка в плашке
Адаптер 13	2 мкл	E1 лунка в плашке
Адаптер 14	2 мкл	F1 лунка в плашке
Адаптер 15	2 мкл	G1 лунка в плашке
Адаптер 16	2 мкл	H1 лунка в плашке
Адаптер 41	2 мкл	A2 лунка в плашке
Адаптер 42	2 мкл	B2 лунка в плашке
Адаптер 43	2 мкл	C2 лунка в плашке
Адаптер 44	2 мкл	D2 лунка в плашке

Адаптер 45	2 мкл	E2 лунка в плашке
Адаптер 46	2 мкл	F2 лунка в плашке
Адаптер 47	2 мкл	G2 лунка в плашке
Адаптер 48	2 мкл	H2 лунка в плашке
Адаптер 57	2 мкл	A3 лунка в плашке
Адаптер 58	2 мкл	B3 лунка в плашке
Адаптер 59	2 мкл	C3 лунка в плашке
Адаптер 60	2 мкл	D3 лунка в плашке
Адаптер 61	2 мкл	E3 лунка в плашке
Адаптер 62	2 мкл	F3 лунка в плашке
Адаптер 63	2 мкл	G3 лунка в плашке
Адаптер 64	2 мкл	H3 лунка в плашке
Адаптер 65	2 мкл	A4 лунка в плашке
Адаптер 66	2 мкл	B4 лунка в плашке
Адаптер 67	2 мкл	C4 лунка в плашке
Адаптер 68	2 мкл	D4 лунка в плашке
Адаптер 69	2 мкл	E4 лунка в плашке
Адаптер 70	2 мкл	F4 лунка в плашке
Адаптер 71	2 мкл	G4 лунка в плашке
Адаптер 72	2 мкл	H4 лунка в плашке
Адаптер 73	2 мкл	A5 лунка в плашке
Адаптер 74	2 мкл	B5 лунка в плашке
Адаптер 75	2 мкл	C5 лунка в плашке
Адаптер 76	2 мкл	D5 лунка в плашке
Адаптер 77	2 мкл	E5 лунка в плашке
Адаптер 78	2 мкл	F5 лунка в плашке
Адаптер 79	2 мкл	G5 лунка в плашке
Адаптер 80	2 мкл	H5 лунка в плашке
Адаптер 81	2 мкл	A6 лунка в плашке
Адаптер 82	2 мкл	B6 лунка в плашке
Адаптер 83	2 мкл	C6 лунка в плашке
Адаптер 84	2 мкл	D6 лунка в плашке
Адаптер 85	2 мкл	E6 лунка в плашке
Адаптер 86	2 мкл	F6 лунка в плашке
Адаптер 87	2 мкл	G6 лунка в плашке
Адаптер 88	2 мкл	H6 лунка в плашке

Комплект для циркуляризации библиотек:

Название	Объем	Количество
Сплинт буфер	46,5 мкл	1 пробирка
ДНК-лигаза Ц	2,0 мкл	1 пробирка
Буфер для расщепления	5,75 мкл	1 пробирка
Расщепляющий фермент	10,5 мкл	1 пробирка
Стоп-буфер	30 мкл	1 пробирка
Частицы для очистки ДНК	800 мкл	1 пробирка
TE буфер Ц	400 мкл	1 пробирка

Результаты контроля:

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс С-А», серия 09CM24-1
1. ВНЕШНИЙ ВИД		
1.1. Раствор праймеров 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.2. Раствор праймеров 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.3. Раствор праймеров 3	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.4. ПЦР-смесь 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.5. КО	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.6. Активатор	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.7. Раствор Л	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.8. ДНК-лигаза	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.9. Магнитные частицы	Суспензия микрочастиц в прозрачной бесцветной жидкости с осадком коричневого цвета	Соответствует
1.10 Реагент В	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.11 ТЕ буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.12 ПЦР-смесь 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.13 Адаптер 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.14 Адаптер 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.15 Адаптер 3	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.16 Адаптер 4	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.17 Адаптер 13	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.18 Адаптер 14	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.19 Адаптер 15	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.20 Адаптер 16	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.21 Адаптер 41	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.22 Адаптер 42	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.23 Адаптер 43	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.24 Адаптер 44	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.25 Адаптер 45	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.26 Адаптер 46	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.27 Адаптер 47	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.28 Адаптер 48	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.29 Адаптер 57	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.30 Адаптер 58	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.31 Адаптер 59	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.32 Адаптер 60	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.33 Адаптер 61	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.34 Адаптер 62	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.35 Адаптер 63	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.36 Адаптер 64	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.37 Адаптер 65	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.38 Адаптер 66	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.39 Адаптер 67	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.40 Адаптер 68	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.41 Адаптер 69	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.42 Адаптер 70	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.43 Адаптер 71	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.44 Адаптер 72	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.45 Адаптер 73	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.46 Адаптер 74	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.47 Адаптер 75	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.48 Адаптер 76	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.49 Адаптер 77	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.50 Адаптер 78	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс С-А», серия 09CM24-1
1.51 Адаптер 79	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.52 Адаптер 80	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.53 Адаптер 81	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.54 Адаптер 82	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.55 Адаптер 83	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.56 Адаптер 84	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.57 Адаптер 85	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.58 Адаптер 86	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.59 Адаптер 87	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.60 Адаптер 88	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.61 Сплитт буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.62 Буфер для расщепления	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.63 Расщепляющий фермент	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.64 Стоп-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.65 Частицы для очистки ДНК	Суспензия микрочастиц в прозрачной бесцветной жидкости с осадком коричневого цвета	Соответствует
1.66 ДНК-лигаза Ц	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.67 ТЕ буфер Ц	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
2. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ		
2.1. Аналитическая чувствительность		
2.1.1. Аналитическая чувствительность для образцов ДНК, выделенной из FFPE и цельной крови		
КО*(5 нг/мкл)	Детекция генетического варианта (chr17:41209079T>TG) в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA.	Соответствует
2.1.2. Аналитическая чувствительность для образцов ДНК, выделенной из плазмы		
КО/5**(1 нг/мкл)	Детекция генетического варианта (chr17:41209079T>TG) в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA	Соответствует
2.2. Аналитическая специфичность		
КПП*** (Образец №7 (5 нг/мкл))	Отсутствие детекции генетических вариантов в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA	Соответствует
2.3 Предел обнаружения (LoD) - наименьшая частота мутантного аллеля в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, которую способно выявлять изделие		
КПП 10%****	Совпадение результатов секвенирования с паспортом КПП	Соответствует
2.4. Правильность определения		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования с паспортом КПП	Соответствует
2.5. Повторяемость		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью одного набора в условиях повторяемости	Соответствует
2.6. Воспроизводимость		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью 2-х наборов одной серии в условиях воспроизводимости	Соответствует
Упаковка	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.5.)	Соответствует
Маркировка	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.6.)	Соответствует

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс С-А», серия 09CM24-1
Комплектность	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.4.)	Соответствует.
Срок годности	12 мес. (ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 5.5.)	Соответствует

*КО –препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), приготовленный в соответствии с СОП №КОЗ.

КО/5 –препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), разведенный водой в 5 раз, приготовленный в соответствии с СОП №КОЗ*КПП – контрольная панель предприятия – 7 препаратов геномной ДНК человека, приготовленных в соответствии с СОП №КППЗ. Состав КПП представлен в таблице 1.

Таблица 1

Названия образца	Хромосома	Координата генетического варианта	Нуклеотидная замена	dbSNP / COSMIC *****
Образец №1	chr17	41209079	T>TG	rs1217805587
Образец №2	chr13	32914437	GT>G	rs80359550
Образец №3	chr11	108175462	G>A	rs1801516
Образец №4	chr22	29121230	C>T	rs121908698
Образец №5	chr16	23646274	CA>C	rs180177102
Образец №6	chr3	178936082	G>A	COSV55873227
Образец №7	Отсутствие генетических вариантов в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA			

****КПП 10% - препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), приготовленный в соответствии с СОП №КППЗ

***** dbSNP / COSMIC - COSMIC - база данных соматических мутаций, dbSNP - база данных наследственных генетических вариантов. Идентификатор указывается по одной из баз в соответствии с тем, в каком статусе она чаще встречается в биологических образцах.

Заключение:

«Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс) по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023», вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс С-А», годен для использования и соответствует требованиям ТУ 21.20.23-006-91709359-2023.

Директор

ООО «ОНКОАТЛАС».....

Милейко В.А.



Прошнуровано и
пронумеровано _____ листа.



ПАСПОРТ № 2

на медицинское изделие

«Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс) по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023»

Вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс С-Б»	Номер серии 09CM24-1	Дата изготовления 06.03.2024 Срок годности 06.03.2025
---	-------------------------	--

Состав набора:

Комплект для целевого обогащения ДНК:

Название	Объем	Количество
Раствор праймеров 1	240 мкл	1 пробирка
Раствор праймеров 2	240 мкл	1 пробирка
ПЦР-смесь 1	192 мкл	1 пробирка
КО	24 мкл	1 пробирка

Комплект для приготовления библиотек:

Название	Объем	Количество
Активатор	96 мкл	1 пробирка
Раствор Л	192 мкл	1 пробирка
ДНК-лигаза	96 мкл	1 пробирка
Магнитные частицы	3840 мкл	1 пробирка
Реагент В	4500 мкл	1 пробирка
Раствор праймеров 3	192 мкл	1 пробирка
ТЕ буфер	4500 мкл	1 пробирка
ПЦР-смесь 2	2 × 1152 мкл	2 пробирки
Адаптер 89	2 мкл	A1 лунка в плашке
Адаптер 90	2 мкл	B1 лунка в плашке
Адаптер 91	2 мкл	C1 лунка в плашке
Адаптер 92	2 мкл	D1 лунка в плашке
Адаптер 93	2 мкл	E1 лунка в плашке
Адаптер 94	2 мкл	F1 лунка в плашке
Адаптер 95	2 мкл	G1 лунка в плашке
Адаптер 96	2 мкл	H1 лунка в плашке
Адаптер 97	2 мкл	A2 лунка в плашке
Адаптер 98	2 мкл	B2 лунка в плашке
Адаптер 99	2 мкл	C2 лунка в плашке
Адаптер 100	2 мкл	D2 лунка в плашке

Адаптер 101	2 мкл	E2 лунка в плашке
Адаптер 102	2 мкл	F2 лунка в плашке
Адаптер 103	2 мкл	G2 лунка в плашке
Адаптер 104	2 мкл	H2 лунка в плашке
Адаптер 121	2 мкл	A3 лунка в плашке
Адаптер 122	2 мкл	B3 лунка в плашке
Адаптер 123	2 мкл	C3 лунка в плашке
Адаптер 124	2 мкл	D3 лунка в плашке
Адаптер 125	2 мкл	E3 лунка в плашке
Адаптер 126	2 мкл	F3 лунка в плашке
Адаптер 127	2 мкл	G3 лунка в плашке
Адаптер 128	2 мкл	H3 лунка в плашке
Адаптер 25	2 мкл	A4 лунка в плашке
Адаптер 26	2 мкл	B4 лунка в плашке
Адаптер 117	2 мкл	C4 лунка в плашке
Адаптер 28	2 мкл	D4 лунка в плашке
Адаптер 29	2 мкл	E4 лунка в плашке
Адаптер 30	2 мкл	F4 лунка в плашке
Адаптер 114	2 мкл	G4 лунка в плашке
Адаптер 32	2 мкл	H4 лунка в плашке
Адаптер 33	2 мкл	A5 лунка в плашке
Адаптер 34	2 мкл	B5 лунка в плашке
Адаптер 35	2 мкл	C5 лунка в плашке
Адаптер 36	2 мкл	D5 лунка в плашке
Адаптер 37	2 мкл	E5 лунка в плашке
Адаптер 38	2 мкл	F5 лунка в плашке
Адаптер 39	2 мкл	G5 лунка в плашке
Адаптер 115	2 мкл	H5 лунка в плашке
Адаптер 49	2 мкл	A6 лунка в плашке
Адаптер 50	2 мкл	B6 лунка в плашке
Адаптер 51	2 мкл	C6 лунка в плашке
Адаптер 52	2 мкл	D6 лунка в плашке
Адаптер 53	2 мкл	E6 лунка в плашке
Адаптер 116	2 мкл	F6 лунка в плашке
Адаптер 55	2 мкл	G6 лунка в плашке
Адаптер 56	2 мкл	H6 лунка в плашке

Комплект для циркуляризации библиотек:

Название	Объем	Количество
Сплинт буфер	46,5 мкл	1 пробирка
ДНК-лигаза Ц	2,0 мкл	1 пробирка
Буфер для расщепления	5,75 мкл	1 пробирка
Расщепляющий фермент	10,5 мкл	1 пробирка
Стоп-буфер	30 мкл	1 пробирка
Частицы для очистки ДНК	800 мкл	1 пробирка
ТЕ буфер Ц	400 мкл	1 пробирка

Результаты контроля:

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс С-Б», серия 09CM24-1
1. ВНЕШНИЙ ВИД		
1.1. Раствор праймеров 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.2. Раствор праймеров 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.3. Раствор праймеров 3	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.4. ПЦР-смесь 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.5. КО	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.6. Активатор	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.7. Раствор Л	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.8. ДНК-лигаза	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.9. Магнитные частицы	Суспензия микрочастиц в прозрачной бесцветной жидкости с осадком коричневого цвета	Соответствует
1.10 Реагент В	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.11 ТЕ буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.12 ПЦР-смесь 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.13 Адаптер 89	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.14 Адаптер 90	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.15 Адаптер 91	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.16 Адаптер 92	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.17 Адаптер 93	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.18 Адаптер 94	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.19 Адаптер 95	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.20 Адаптер 96	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.21 Адаптер 97	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.22 Адаптер 98	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.23 Адаптер 99	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.24 Адаптер 100	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.25 Адаптер 101	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.26 Адаптер 102	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.27 Адаптер 103	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.28 Адаптер 104	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.29 Адаптер 121	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.30 Адаптер 122	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.31 Адаптер 123	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.32 Адаптер 124	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.33 Адаптер 125	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.34 Адаптер 126	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.35 Адаптер 127	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.36 Адаптер 128	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.37 Адаптер 25	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.38 Адаптер 26	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.39 Адаптер 117	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.40 Адаптер 28	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.41 Адаптер 29	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.42 Адаптер 30	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.43 Адаптер 114	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.44 Адаптер 32	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.45 Адаптер 33	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.46 Адаптер 34	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.47 Адаптер 35	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.48 Адаптер 36	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.49 Адаптер 37	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.50 Адаптер 38	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс С-Б», серия 09СМ24-1
1.51 Адаптер 39	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.52 Адаптер 115	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.53 Адаптер 49	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.54 Адаптер 50	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.55 Адаптер 51	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.56 Адаптер 52	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.57 Адаптер 53	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.58 Адаптер 116	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.59 Адаптер 55	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.60 Адаптер 56	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.61 Сплитт буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.62 Буфер для расщепления	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.63 Расщепляющий фермент	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.64 Стоп-буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.65 Частицы для очистки ДНК	Суспензия микрочастиц в прозрачной бесцветной жидкости с осадком коричневого цвета	Соответствует
1.66 ДНК-лигаза Ц	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.67 ТЕ буфер Ц	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
2. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ		
2.1. Аналитическая чувствительность		
2.1.1. Аналитическая чувствительность для образцов ДНК, выделенной из FFPE и цельной крови		
КО*(5 нг/мкл)	Детекция генетического варианта (chr17:41209079T>TG) в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA.	Соответствует
2.1.2. Аналитическая чувствительность для образцов ДНК, выделенной из плазмы		
КО/5**(1 нг/мкл)	Детекция генетического варианта (chr17:41209079T>TG) в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA	Соответствует
2.2. Аналитическая специфичность		
КПП*** (Образец №7 (5 нг/мкл))	Отсутствие детекции генетических вариантов в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA	Соответствует
2.3 Предел обнаружения (LoD) - наименьшая частота мутантного аллеля в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, которую способно выявлять изделие		
КПП 10%****	Совпадение результатов секвенирования с паспортом КПП	Соответствует
2.4. Правильность определения		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования с паспортом КПП	Соответствует
2.5. Повторяемость		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью одного набора в условиях повторяемости	Соответствует
2.6. Воспроизводимость		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью 2-х наборов одной серии в условиях воспроизводимости	Соответствует
Упаковка	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.5.)	Соответствует
Маркировка	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.6.)	Соответствует

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс С-Б», серия 09СМ24-1
Комплектность	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.4.)	Соответствует.
Срок годности	12 мес. (ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 5.5.)	Соответствует

*КО – препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), приготовленный в соответствии с СОП №КОЗ.

КО/5 – препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), разведенный водой в 5 раз, приготовленный в соответствии с СОП №КОЗ. *КПП – контрольная панель предприятия – 7 препаратов геномной ДНК человека, приготовленных в соответствии с СОП №КППЗ. Состав КПП представлен в таблице 1.

Таблица 1

Названия образца	Хромосома	Координата генетического варианта	Нуклеотидная замена	dbSNP / COSMIC *****
Образец №1	chr17	41209079	T>TG	rs1217805587
Образец №2	chr13	32914437	GT>G	rs80359550
Образец №3	chr11	108175462	G>A	rs1801516
Образец №4	chr22	29121230	C>T	rs121908698
Образец №5	chr16	23646274	CA>C	rs180177102
Образец №6	chr3	178936082	G>A	COSV55873227
Образец №7	Отсутствие генетических вариантов в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA			

****КПП 10% - препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), приготовленный в соответствии с СОП №КППЗ

***** dbSNP / COSMIC - COSMIC - база данных соматических мутаций, dbSNP - база данных наследственных генетических вариантов. Идентификатор указывается по одной из баз в соответствии с тем, в каком статусе она чаще встречается в биологических образцах.

Заключение:

«Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс) по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023», вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс С-Б», годен для использования и соответствует требованиям ТУ 21.20.23-006-91709359-2023.

Директор

ООО «ОНКОАТЛАС».....

/ Милейко В.А.



Прошнуровано и
пронумеровано **3** листа.



ПАСПОРТ № 3

на медицинское изделие

«Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс) по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023»

Вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс А»	Номер серии 09CM24-1	Дата изготовления 06.03.2024
		Срок годности 06.04.2025

Состав набора:

Комплект для целевого обогащения ДНК:

Название	Объем	Количество
Раствор праймеров 1	240 мкл	1 пробирка
Раствор праймеров 2	240 мкл	1 пробирка
ПЦР-смесь 1	192 мкл	1 пробирка
КО	24 мкл	1 пробирка

Комплект для приготовления библиотек:

Название	Объем	Количество
Активатор	96 мкл	1 пробирка
Раствор Л	192 мкл	1 пробирка
ДНК-лигаза	96 мкл	1 пробирка
Магнитные частицы	3840 мкл	1 пробирка
Реагент В	4500 мкл	1 пробирка
Раствор праймеров 3	192 мкл	1 пробирка
ТЕ буфер	4500 мкл	1 пробирка
ПЦР-смесь 2	2 × 1152 мкл	2 пробирки
Адаптер 1	2 мкл	A1 лунка в плашке
Адаптер 2	2 мкл	B1 лунка в плашке
Адаптер 3	2 мкл	C1 лунка в плашке
Адаптер 4	2 мкл	D1 лунка в плашке
Адаптер 13	2 мкл	E1 лунка в плашке
Адаптер 14	2 мкл	F1 лунка в плашке
Адаптер 15	2 мкл	G1 лунка в плашке
Адаптер 16	2 мкл	H1 лунка в плашке
Адаптер 41	2 мкл	A2 лунка в плашке
Адаптер 42	2 мкл	B2 лунка в плашке
Адаптер 43	2 мкл	C2 лунка в плашке
Адаптер 44	2 мкл	D2 лунка в плашке

Адаптер 45	2 мкл	E2 лунка в плашке
Адаптер 46	2 мкл	F2 лунка в плашке
Адаптер 47	2 мкл	G2 лунка в плашке
Адаптер 48	2 мкл	H2 лунка в плашке
Адаптер 57	2 мкл	A3 лунка в плашке
Адаптер 58	2 мкл	B3 лунка в плашке
Адаптер 59	2 мкл	C3 лунка в плашке
Адаптер 60	2 мкл	D3 лунка в плашке
Адаптер 61	2 мкл	E3 лунка в плашке
Адаптер 62	2 мкл	F3 лунка в плашке
Адаптер 63	2 мкл	G3 лунка в плашке
Адаптер 64	2 мкл	H3 лунка в плашке
Адаптер 65	2 мкл	A4 лунка в плашке
Адаптер 66	2 мкл	B4 лунка в плашке
Адаптер 67	2 мкл	C4 лунка в плашке
Адаптер 68	2 мкл	D4 лунка в плашке
Адаптер 69	2 мкл	E4 лунка в плашке
Адаптер 70	2 мкл	F4 лунка в плашке
Адаптер 71	2 мкл	G4 лунка в плашке
Адаптер 72	2 мкл	H4 лунка в плашке
Адаптер 73	2 мкл	A5 лунка в плашке
Адаптер 74	2 мкл	B5 лунка в плашке
Адаптер 75	2 мкл	C5 лунка в плашке
Адаптер 76	2 мкл	D5 лунка в плашке
Адаптер 77	2 мкл	E5 лунка в плашке
Адаптер 78	2 мкл	F5 лунка в плашке
Адаптер 79	2 мкл	G5 лунка в плашке
Адаптер 80	2 мкл	H5 лунка в плашке
Адаптер 81	2 мкл	A6 лунка в плашке
Адаптер 82	2 мкл	B6 лунка в плашке
Адаптер 83	2 мкл	C6 лунка в плашке
Адаптер 84	2 мкл	D6 лунка в плашке
Адаптер 85	2 мкл	E6 лунка в плашке
Адаптер 86	2 мкл	F6 лунка в плашке
Адаптер 87	2 мкл	G6 лунка в плашке
Адаптер 88	2 мкл	H6 лунка в плашке

Результаты контроля:

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс А», серия 09CM24-1
1. ВНЕШНИЙ ВИД		
1.1. Раствор праймеров 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.2. Раствор праймеров 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.3. Раствор праймеров 3	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.4. ПЦР-смесь 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.5. КО	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.6 Активатор	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.7. Раствор Л	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.8. ДНК-лигаза	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.9. Магнитные частицы	Суспензия микрочастиц в прозрачной бесцветной жидкости с осадком коричневого цвета	Соответствует
1.10 Реагент В	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.11 ТЕ буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.12 ПЦР-смесь 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс А», серия 09CM24-1
1.13 Адаптер 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.14 Адаптер 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.15 Адаптер 3	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.16 Адаптер 4	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.17 Адаптер 13	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.18 Адаптер 14	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.19 Адаптер 15	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.20 Адаптер 16	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.21 Адаптер 41	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.22 Адаптер 42	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.23 Адаптер 43	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.24 Адаптер 44	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.25 Адаптер 45	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.26 Адаптер 46	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.27 Адаптер 47	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.28 Адаптер 48	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.29 Адаптер 57	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.30 Адаптер 58	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.31 Адаптер 59	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.32 Адаптер 60	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.33 Адаптер 61	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.34 Адаптер 62	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.35 Адаптер 63	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.36 Адаптер 64	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.37 Адаптер 65	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.38 Адаптер 66	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.39 Адаптер 67	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.40 Адаптер 68	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.41 Адаптер 69	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.42 Адаптер 70	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.43 Адаптер 71	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.44 Адаптер 72	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.45 Адаптер 73	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.46 Адаптер 74	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.47 Адаптер 75	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.48 Адаптер 76	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.49 Адаптер 77	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.50 Адаптер 78	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.51 Адаптер 79	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.52 Адаптер 80	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.53 Адаптер 81	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.54 Адаптер 82	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.55 Адаптер 83	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.56 Адаптер 84	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.57 Адаптер 85	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.58 Адаптер 86	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.59 Адаптер 87	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.60 Адаптер 88	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
2. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ		
2.1. Аналитическая чувствительность		
2.1.1. Аналитическая чувствительность для образцов ДНК, выделенной из FFPE и цельной крови		
KO*(5 нг/мкл)	Детекция генетического варианта (chr17:41209079T>TG) в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA.	Соответствует

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс А», серия 09CM24-1
2.1.2. Аналитическая чувствительность для образцов ДНК, выделенной из плазмы		
КО/5** (1 нг/мкл)	Детекция генетического варианта (chr17:41209079T>TG) в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA	Соответствует
2.2. Аналитическая специфичность		
КПП*** (Образец №7 (5 нг/мкл))	Отсутствие детекции генетических вариантов в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA	Соответствует
2.3 Предел обнаружения (LoD) - наименьшая частота мутантного аллеля в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, которую способно выявлять изделие		
КПП 10%****	Совпадение результатов секвенирования с паспортом КПП	Соответствует
2.4. Правильность определения		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования с паспортом КПП	Соответствует
2.5. Повторяемость		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью одного набора в условиях повторяемости	Соответствует
2.6. Воспроизводимость		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью 2-х наборов одной серии в условиях воспроизводи-мости	Соответствует
Упаковка	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.5.)	Соответствует
Маркировка	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.6.)	Соответствует
Комплектность	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.4.)	Соответствует.
Срок годности	12 мес. (ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 5.5.)	Соответствует

*КО –препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), приготовленный в соответствии с СОП №КОЗ.

КО/5 –препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), разведенный водой в 5 раз, приготовленный в соответствии с СОП №КОЗ.*КПП – контрольная панель предприятия – 7 препаратов геномной ДНК человека, приготовленных в соответствии с СОП №КППЗ. Состав КПП представлен в таблице 1.

Таблица 1

Названия образца	Хромосома	Координата генетического варианта	Нуклеотидная замена	dbSNP / COSMIC *****
Образец №1	chr17	41209079	T>TG	rs1217805587
Образец №2	chr13	32914437	GT>G	rs80359550
Образец №3	chr11	108175462	G>A	rs1801516
Образец №4	chr22	29121230	C>T	rs121908698
Образец №5	chr16	23646274	CA>C	rs180177102
Образец №6	chr3	178936082	G>A	COSV55873227
Образец №7	Отсутствие генетических вариантов в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA			

****КПП 10% - препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), приготовленный в соответствии с СОП №КППЗ

***** dbSNP / COSMIC - COSMIC - база данных соматических мутаций, dbSNP - база данных наследственных генетических вариантов. Идентификатор указывается по одной из баз в соответствии с тем, в каком статусе она чаще встречается в биологических образцах.

Заключение:

«Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс) по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023», вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс А», годен для использования и соответствует требованиям ТУ 21.20.23-006-91709359-2023.

Директор

ООО «ОНКОАТЛАС».....

/ Милейко В.А.



Прошнуровано и
пронумеровано 3 листа.



...

...

ПАСПОРТ № 4

на медицинское изделие

«Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс) по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023»

Вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс Б»	Номер серии 09CM24-1	Дата изготовления 06.03.2024
		Срок годности 06.03.2025

Состав набора:

Комплект для целевого обогащения ДНК:

Название	Объем	Количество
Раствор праймеров 1	240 мкл	1 пробирка
Раствор праймеров 2	240 мкл	1 пробирка
ПЦР-смесь 1	192 мкл	1 пробирка
КО	24 мкл	1 пробирка

Комплект для приготовления библиотек:

Название	Объем	Количество
Активатор	96 мкл	1 пробирка
Раствор Л	192 мкл	1 пробирка
ДНК-лигаза	96 мкл	1 пробирка
Магнитные частицы	3840 мкл	1 пробирка
Реагент В	4500 мкл	1 пробирка
Раствор праймеров 3	192 мкл	1 пробирка
ТЕ буфер	4500 мкл	1 пробирка
ПЦР-смесь 2	2 × 1152 мкл	2 пробирки
Адаптер 89	2 мкл	A1 лунка в плашке
Адаптер 90	2 мкл	B1 лунка в плашке
Адаптер 91	2 мкл	C1 лунка в плашке
Адаптер 92	2 мкл	D1 лунка в плашке
Адаптер 93	2 мкл	E1 лунка в плашке
Адаптер 94	2 мкл	F1 лунка в плашке
Адаптер 95	2 мкл	G1 лунка в плашке
Адаптер 96	2 мкл	H1 лунка в плашке
Адаптер 97	2 мкл	A2 лунка в плашке
Адаптер 98	2 мкл	B2 лунка в плашке
Адаптер 99	2 мкл	C2 лунка в плашке
Адаптер 100	2 мкл	D2 лунка в плашке

Адаптер 101	2 мкл	E2 лунка в плашке
Адаптер 102	2 мкл	F2 лунка в плашке
Адаптер 103	2 мкл	G2 лунка в плашке
Адаптер 104	2 мкл	H2 лунка в плашке
Адаптер 121	2 мкл	A3 лунка в плашке
Адаптер 122	2 мкл	B3 лунка в плашке
Адаптер 123	2 мкл	C3 лунка в плашке
Адаптер 124	2 мкл	D3 лунка в плашке
Адаптер 125	2 мкл	E3 лунка в плашке
Адаптер 126	2 мкл	F3 лунка в плашке
Адаптер 127	2 мкл	G3 лунка в плашке
Адаптер 128	2 мкл	H3 лунка в плашке
Адаптер 25	2 мкл	A4 лунка в плашке
Адаптер 26	2 мкл	B4 лунка в плашке
Адаптер 117	2 мкл	C4 лунка в плашке
Адаптер 28	2 мкл	D4 лунка в плашке
Адаптер 29	2 мкл	E4 лунка в плашке
Адаптер 30	2 мкл	F4 лунка в плашке
Адаптер 114	2 мкл	G4 лунка в плашке
Адаптер 32	2 мкл	H4 лунка в плашке
Адаптер 33	2 мкл	A5 лунка в плашке
Адаптер 34	2 мкл	B5 лунка в плашке
Адаптер 35	2 мкл	C5 лунка в плашке
Адаптер 36	2 мкл	D5 лунка в плашке
Адаптер 37	2 мкл	E5 лунка в плашке
Адаптер 38	2 мкл	F5 лунка в плашке
Адаптер 39	2 мкл	G5 лунка в плашке
Адаптер 115	2 мкл	H5 лунка в плашке
Адаптер 49	2 мкл	A6 лунка в плашке
Адаптер 50	2 мкл	B6 лунка в плашке
Адаптер 51	2 мкл	C6 лунка в плашке
Адаптер 52	2 мкл	D6 лунка в плашке
Адаптер 53	2 мкл	E6 лунка в плашке
Адаптер 116	2 мкл	F6 лунка в плашке
Адаптер 55	2 мкл	G6 лунка в плашке
Адаптер 56	2 мкл	H6 лунка в плашке

Результаты контроля:

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс Б», серия 09CM24-1
1. ВНЕШНИЙ ВИД		
1.1. Раствор праймеров 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.2. Раствор праймеров 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.3. Раствор праймеров 3	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.4. ПЦР-смесь 1	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.5. КО	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.6. Активатор	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.7. Раствор Л	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.8. ДНК-лигаза	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.9. Магнитные частицы	Суспензия микрочастиц в прозрачной бесцветной жидкости с осадком коричневого цвета	Соответствует
1.10 Реагент В	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.11 ТЕ буфер	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.12 ПЦР-смесь 2	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс Б», серия 09CM24-1
1.13 Адаптер 89	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.14 Адаптер 90	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.15 Адаптер 91	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.16 Адаптер 92	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.17 Адаптер 93	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.18 Адаптер 94	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.19 Адаптер 95	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.20 Адаптер 96	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.21 Адаптер 97	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.22 Адаптер 98	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.23 Адаптер 99	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.24 Адаптер 100	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.25 Адаптер 101	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.26 Адаптер 102	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.27 Адаптер 103	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.28 Адаптер 104	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.29 Адаптер 121	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.30 Адаптер 122	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.31 Адаптер 123	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.32 Адаптер 124	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.33 Адаптер 125	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.34 Адаптер 126	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.35 Адаптер 127	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.36 Адаптер 128	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.37 Адаптер 25	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.38 Адаптер 26	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.39 Адаптер 117	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.40 Адаптер 28	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.41 Адаптер 29	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.42 Адаптер 30	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.43 Адаптер 114	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.44 Адаптер 32	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.45 Адаптер 33	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.46 Адаптер 34	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.47 Адаптер 35	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.48 Адаптер 36	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.49 Адаптер 37	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.50 Адаптер 38	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.51 Адаптер 39	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.52 Адаптер 115	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.53 Адаптер 49	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.54 Адаптер 50	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.55 Адаптер 51	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.56 Адаптер 52	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.57 Адаптер 53	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.58 Адаптер 116	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.59 Адаптер 55	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
1.60 Адаптер 56	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
2. ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ		
2.1. Аналитическая чувствительность		
2.1.1. Аналитическая чувствительность для образцов ДНК, выделенной из FFPE и цельной крови		
КО*(5 нг/мкл)	Детекция генетического варианта (chr17:41209079T>TG) в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA.	Соответствует

Наименование показателя	Нормативные технические требования	Результаты контроля «HELICON® ABC Плюс Б», серия 09CM24-1
2.1.2. Аналитическая чувствительность для образцов ДНК, выделенной из плазмы		
КО/5** (1 нг/мкл)	Детекция генетического варианта (chr17:41209079T>TG) в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA	Соответствует
2.2. Аналитическая специфичность		
КПП*** (Образец №7 (5 нг/мкл))	Отсутствие детекции генетических вариантов в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA	Соответствует
2.3 Предел обнаружения (LoD) - наименьшая частота мутантного аллеля в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, которую способно выявлять изделие		
КПП 10%****	Совпадение результатов секвенирования с паспортом КПП	Соответствует
2.4. Правильность определения		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования с паспортом КПП	Соответствует
2.5. Повторяемость		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью одного набора в условиях повторяемости	Соответствует
2.6. Воспроизводимость		
КПП** 100%	Совпадение результатов секвенирования, полученных с помощью 2-х наборов одной серии в условиях воспроизводимости	Соответствует
Упаковка	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.5.)	Соответствует
Маркировка	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.6.)	Соответствует
Комплектность	Визуально (согласно ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 1.4.)	Соответствует.
Срок годности	12 мес. (ТУ 21.20.23-006-91709359-2023, п. 5.5.)	Соответствует

*КО – препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), приготовленный в соответствии с СОП №КОЗ.

**КО/5 – препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), разведенный водой в 5 раз, приготовленный в соответствии с СОП №КОЗ.

***КПП – контрольная панель предприятия – 7 препаратов геномной ДНК человека, приготовленных в соответствии с СОП №КППЗ. Состав КПП представлен в таблице 1.

Таблица 1

Названия образца	Хромосома	Координата генетического варианта	Нуклеотидная замена	dbSNP / COSMIC *****
Образец №1	chr17	41209079	T>TG	rs1217805587
Образец №2	chr13	32914437	GT>G	rs80359550
Образец №3	chr11	108175462	G>A	rs1801516
Образец №4	chr22	29121230	C>T	rs121908698
Образец №5	chr16	23646274	CA>C	rs180177102
Образец №6	chr3	178936082	G>A	COSV55873227
Образец №7	Отсутствие генетических вариантов в регионах генов BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA			

****КПП 10% - препарат геномной ДНК человека (5 нг/мкл), приготовленный в соответствии с СОП №КППЗ

***** dbSNP / COSMIC - COSMIC - база данных соматических мутаций, dbSNP - база данных наследственных генетических вариантов. Идентификатор указывается по одной из баз в соответствии с тем, в каком статусе она чаще встречается в биологических образцах.

Заключение:

«Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс) по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023», вариант исполнения «HELICON® ABC Плюс Б», годен для использования и соответствует требованиям ТУ 21.20.23-006-91709359-2023.

Директор

ООО «ОНКОАТЛАС».....



.....Милейко В.А.

Прошнуровано и
пронумеровано 3 листа.



ИНФОРМАЦИОННОЕ ПИСЬМО
относительно результатов испытаний на стабильность

Настоящим письмом ООО «ОНКОАТЛАС» выражает свое почтение и сообщает, что внесенные изменения в части добавления торговой марки (HELICON®) в наименование медицинского изделия «Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс) по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023» не влияют на результаты проведенных испытаний на стабильность, описанных в отчетах по стабильности и представленных в составе регистрационного досье № 107491 от 25.12.2023.

Также сообщаем, что при испытаниях на стабильность, описанных в отчетах по стабильности и представленных в составе регистрационного досье № 107491 от 25.12.2023, были уже учтены температурные режимы хранения магнитных частиц в течении срока годности (от -22 до - 20°C) и хранения магнитных частиц после первого вскрытия (2-8°C). Таким образом, условия проведения испытаний на стабильность медицинского изделия не изменялись, а только конкретизировались по запросу №10-8559/24 от 07.02.2024 в актуализированном документе «Отчеты о стабильности медицинского изделия «Набор реагентов для целевого обогащения и приготовления библиотек ДНК с последующим одновременным выявлением генетических вариантов в генах BRCA1, BRCA2, ATM, CHEK2, PALB2, PIK3CA, ассоциированных с чувствительностью к противоопухолевой лекарственной терапии и наследственными опухолевыми синдромами, у пациентов с раком молочной железы, раком яичника, раком предстательной железы, раком поджелудочной железы, а также опухолями невыявленной первичной локализации (HELICON® ABC Плюс) по ТУ 21.20.23-006-91709359-2023» V02.

Отчеты о стабильности, актуализированные с учетом нового наименования и уточнений относительно условий проведения испытаний на стабильность, дополнительно представлены в комплекте документов, предоставляемых по запросу №10-8559/24 от 07.02.2024.

Директор
ООО «ОНКОАТЛАС»



В.А. Милейко

Прошнуровано и
пронумеровано 2 листа.

