

MiSeq™ Dx-Gerät

Das erste von der FDA regulierte und CE-IVD-markierte Sequenzierungsgerät der nächsten Generation für die *In-vitro*-Diagnostik.

Vorteile

- Benutzerfreundliches Gerät**
 Einfache Bedienung des Geräts dank intuitiver Touchscreen-Benutzeroberfläche und einem automatisierten Workflow
- Außergewöhnliche Datenqualität**
 Nachgewiesene Zuverlässigkeit durch umfassende Systemverifizierung
- Große Anwendungsbreite**
 Ist für die Verwendung mit einer Auswahl an *In-vitro*-Diagnostik-Assays (IVD) und als offene Plattform zur Entwicklung anwendungsspezifischer IVD-Kits und -Assays vorgesehen
- Flexible Optionen für die klinische Laborumgebung**
 Wird mit zahlreichen Molekular diagnostik-Assays angeboten und bietet die Option, eine Reihe von Assays im Forschungsmodus durchzuführen



Abbildung 1: MiSeq Dx-Gerät – Das von der FDA regulierte MiSeq Dx-Gerät mit CE-IVD-Kennzeichnung bietet einen einfachen Workflow, eine leicht zu bedienende Software-Benutzeroberfläche und modernste Benutzersicherheitsfunktionen.

Überblick

Das MiSeq Dx-Gerät ist die erste von der Food and Drug Administration (FDA) regulierte und der Conformité-Européene-Richtlinie für *In-vitro*-Diagnostika entsprechende (CE-IVD-markierte) Plattform für NGS (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) (Abbildung 1). Das speziell für die klinische Laborumgebung entwickelte kompakte MiSeq Dx-Gerät benötigt nur wenig Platz (0,3 Quadratmeter) und bietet einen benutzerfreundlichen Workflow sowie eine auf die verschiedenen Anforderungen klinischer Labors zugeschnittene Datenausgabe. Darüber hinaus bietet die im Gerät integrierte Software Optionen für die Laufkonfiguration, Probenverfolgung und Benutzerverwaltung sowie für Prüfpfade und die Ergebnisinterpretation.* Zusammen mit der bewährten SBS-Chemie (Sequenzierung durch Synthese) von Illumina ermöglicht das MiSeq Dx-Gerät genaue und zuverlässige Screenings und Diagnostests.

Der Vorteil von NGS

Im Vergleich zu der auf der Kapillarelektrophorese basierenden Sanger-Sequenzierung kann mit der NGS in kürzerer Zeit und mit einem geringeren manuellen Aufwand ein breiteres Spektrum an DNA-Varianten, einschließlich niedrigfrequenter Varianten und benachbarter phasengesteuerter Varianten, erkannt werden.^{1,2} Die SBS-Chemie von Illumina nutzt die natürlichen Mechanismen zwischen den vier markierten Nukleotiden, was die Integrationsfehler reduziert und, verglichen mit anderen Sequenzierungssystemen, eine zuverlässigere Sequenzierung von repetitiven Regionen und Homopolymeren ermöglicht.³ Umfassende Ergebnisse liegen schnell vor, sodass zeitaufwändige Reflex-Tests entfallen

Einfacher, aus drei Schritten bestehender Workflow

Auf dem MiSeq Dx-Gerät ausgeführte Assays durchlaufen einen einfachen dreistufigen Prozess (Abbildung 2). Dieser beginnt mit genomischer DNA (gDNA), die aus humanen peripheren Vollblutproben oder aus formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem (FFPE) Gewebe gewonnen wurde. Anschließend erfolgt die Vorbereitung der DNA-Proben für die Sequenzierung durch die Zugabe von Primern, wobei indizierte Bibliotheken für die gleichzeitige Erfassung und Amplifikation von Hunderten von Zielregionen in mehreren Proben generiert werden.

Die vorbereiteten Bibliotheken werden mit einer gebrauchsfertigen, vorgefüllten MiSeq Dx-Reagenzienkartusche sequenziert. Tauen Sie einfach die Kartusche auf, geben Sie die Bibliothek hinzu, setzen Sie die Kartusche in das MiSeq Dx-Gerät ein und starten Sie die Sequenzierung per Knopfdruck.

NGS auf der MiSeq Dx-Plattform verwendet die SBS-Chemie von Illumina, in der eine massive parallele Sequenzierung von Millionen von DNA-Fragmenten mithilfe einer eigens entwickelten Methode auf der Basis reversibler Terminatoren erfolgt. Einzelne Basen werden während der Integration in wachsende DNA-Stränge erkannt. Base-Calls erfolgen bei jedem Zyklus direkt anhand von Signalstärkemessungen. Mehr Informationen zur SBS-Chemie finden Sie unter www.illumina.com.

*Detaillierte Ergebnisberichte sind für Target-spezifische Assays, z. B. den MiSeq Dx 139-Varianten-Assay für zystische Fibrose und den MiSeq Dx Klinischen Sequenzierungs-Assay für zystische Fibrose, verfügbar.



Abbildung 2: Dreistufiger MiSeqDx-Assay-Prozess – Das MiSeqDx-Gerät ist Teil eines integrierten, dreistufigen Prozesses. Detaillierte Ergebnisberichte sind nur für Target-spezifische Assays, z. B. das Extended RAS Panel, den MiSeqDx 139-Varianten-Assay für zystische Fibrose und den MiSeqDx Klinischen Sequenzierungs-Assay für zystische Fibrose, verfügbar.

Integrierte System-Software

Die MiSeqDx-Plattform bietet eine vollständig im Gerät integrierte und über eine benutzerfreundliche Touchscreen-Oberfläche zugängliche Gerätesoftware. Die Local Run Manager-Software ermöglicht es, Sequenzierungsläufe über Prüfpfade zu planen und zu verfolgen. Sie unterstützt außerdem die Bibliotheksverfolgung und die Festlegung von Parametern für den Sequenzierungslauf. Die Local Run Manager-Software wird auf dem Gerätecomputer ausgeführt, sodass Benutzer von anderen Computern aus, die mit demselben Netzwerk wie der Gerätecomputer verbunden sind, den Fortschritt der Ausführung überwachen und die Analyseergebnisse einsehen können. Nach Abschluss der Sequenzierung startet Local Run Manager automatisch die Datenanalyse mit einem der verfügbaren Analysemodule. Es stehen mehrere assayspezifische Analysemodule zur Verfügung, mit denen das Alignment und das Varianten-Calling für spezifische Varianten oder über die benutzerdefinierten Zielregionen hinweg durchgeführt werden können.

User Management Software (Benutzerverwaltungssoftware)

Um eine ordnungsgemäße Systemnutzung sicherzustellen, ist das MiSeqDx-Gerät mit einem zwischen Local Run Manager und der MiSeq Operating Software integrierten Benutzerverwaltungssystem ausgestattet. Dies ermöglicht Labors die Kontrolle und Verfolgung des Systemzugriffs, wodurch sichergestellt wird, dass nur befugtes Personal Tests ausführen kann.

Verfügbare Assays und Reagenzien

Derzeit sind mehrere IVD-Assays und -Reagenzien für das MiSeqDx-Gerät erhältlich:[†]

- **Der MiSeqDx 139-Varianten-Assay für zystische Fibrose** erkennt 139 klinisch relevante und funktional verifizierte Varianten im CFTR-Gen (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) gemäß der Definition in der CFTR2-Datenbank.⁴
- **Der MiSeqDx Klinische Sequenzierungs-Assay für zystische Fibrose** erkennt Mutationen innerhalb der proteincodierenden Regionen und Intron-Exon-Grenzen des *CFTR*-Gens.
- **Das TruSeq Custom Amplicon Kit Dx** ist eine ampliconbasierte Sequenzierungslösung, die es Benutzern ermöglicht, Assays zu entwickeln, die auf die für sie wichtigsten genetischen Varianten abzielen. Benutzer gestalten ihre eigenen, für die Regionen von Interesse spezifischen Oligonukleotidsonden und verwenden validierte MiSeqDx-Reagenzien, um die Bibliotheken vorzubereiten und die Sequenzierung durchzuführen.
- **Das Extended RAS Panel** ist das erste NGS-basierte und von der FDA zugelassene In-vitro-Diagnostikum zur Feststellung der Eignung von Patienten mit kolorektalem Karzinom für eine Behandlung mit Vectibix®. Die Eignung wird durch den simultanen Nachweis von 56 Mutationen in *RAS*-Genen bewertet, bei denen eine Vectibix-Therapie kontraindiziert ist. Die Gerätesoftware generiert einen einfach zu interpretierenden Bericht. Das Panel ist derzeit nur in den USA erhältlich.

Weitere Funktionalität erhalten Sie mit den Bibliotheksvorbereitungs-Assays von Illumina, die für die Verwendung auf dem MiSeq™-System bzw. MiSeqDx-Gerät bei Ausführung im Forschungsmodus entwickelt wurden.

[†]Detaillierte Ergebnisberichte sind für Target-spezifische Assays, z. B. den MiSeqDx 139-Varianten-Assay für zystische Fibrose und den MiSeqDx Klinischen Sequenzierungs-Assay für zystische Fibrose, verfügbar.

MiSeqDx™-Gerät – Spezifikationen

Gerätespezifikationen
Gerätekonfiguration RFID-Tracking für Verbrauchsmaterialien MiSeq Operating Software Local Run Manager-Software
Gerätesteuerscomputer (intern) Basiseinheit: Intel Core i7-2710QE 2, 10 GHz Arbeitsspeicher: 2 x 8 GB DDR3 SO-DIMM Festplatte: Keine SSD: 2 x 1TB SATA Betriebssystem: Windows 7 standardmäßig vorinstalliert
Leuchtdiode (LED) 530 nm, 660 nm
Abmessungen B x T x H: 68,6 cm x 56,5 cm x 52,3 cm (27,0 Zoll x 22,2 Zoll x 20,6 Zoll) Gewicht: 54,5 kg Bruttogewicht: 90,9 kg
Leistungsbedarf 100–240 V Wechselstrom bei 50/60Hz, 10 A, 400 W
RFID (Radio Frequency Identification) Frequenz: 13,56 MHz Leistung: 100 mW
Durchsatz 1–96 Proben/Lauf, je nach Assay
Leistungsparameter Maximale Read-Länge: bis zu 2 x 300 bp (Informationen zu den Assay-abhängigen Spezifikationen finden Sie in der Packungsbeilage) Ausgabe (Lauf von 2 x 150 bp): > 5 Gb Reads nach Filterung > 15 Millionen Q30-Score (bei einer Read-Länge von 2 x 150 bp) ≥ 80 % Gesamtgenauigkeit: ≥ 99,66 % Gesamt-Reproduzierbarkeit: ≥ 99,70 %

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
MiSeqDx-Gerät	DX-410-1001
MiSeqDx-Reagenzien-Kit v3	20012552
TruSeq Custom Amplicon Kit Dx	20005718
MiSeqDx 139-Varianten-Assay für zystische Fibrose (20 Läufe, bis zu 960 Tests)	DX-102-1003
MiSeqDx 139-Varianten-Assay für zystische Fibrose (zwei Läufe, bis zu 96 Tests)	DX-102-1004
MiSeqDx Klinischer Sequenzierungs-Assay für zystische Fibrose (sechs Läufe, bis zu 48 Proben)	DX-102-1001
Extended RAS Panel (Konfiguriert für zwei Läufe mit bis zu 10 Proben plus zwei Kontrollproben pro Lauf oder 20 Proben pro Kit)	20012431

Weitere Informationen

Weitere Informationen über das MiSeqDx-Gerät finden Sie unter www.illumina.com/miseqdx.

Quellen

- Shokralla S, Porter TM, Gibson JF, et al. (2015) Massively parallel multiplex DNA sequencing for specimen identification using an Illumina MiSeq platform. *Sci Rep* 5:9687.
- Precone V, Monaco VD, Esposito MV (2015) Cracking the Code of Human Diseases Using Next-Generation Sequencing: Applications, Challenges, and Perspectives. *Biomed Res Int* 161648.
- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. (2008) Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry. *Nature* 456(7218):53-59.
- Clinical and Functional Translation of CFTR. www.cftr2.org. Aufgerufen am 15. August 2017.

Erklärungen zur bestimmungsgemäßen Verwendung

MiSeq™Dx-Gerät – bestimmungsgemäße Verwendung

Das MiSeqDx-Gerät ist für die zielgerichtete Sequenzierung von DNA-Bibliotheken aus humangenomischer DNA bestimmt, wenn sie für *In-vitro*-Diagnostik-Assays (IVD) auf dem Gerät verwendet werden. Die genomische DNA wird aus peripherem Vollblut oder aus formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem (FFPE) Gewebe gewonnen. Das MiSeqDx-Gerät ist nicht für die Gesamtgenom- oder *De-novo*-Sequenzierung vorgesehen. Auf dem MiSeqDx-Gerät dürfen nur registrierte und gelistete, freigegebene oder zugelassene IVD-Reagenzien und Analysesoftware verwendet werden.

MiSeq™Dx-Reagenzien-Kit v3 – bestimmungsgemäße Verwendung

Das MiSeqDx-Reagenzien-Kit v3 von Illumina ist ein Satz von Reagenzien und Verbrauchsmaterialien für die Sequenzierung von Probenbibliotheken bei Verwendung von validierten Assays. Das MiSeqDx-Reagenzien-Kit v3 ist zur Verwendung mit dem MiSeqDx-Gerät und Analysesoftware vorgesehen.

MiSeq™Dx 139-Varianten-Assay für zystische Fibrose – bestimmungsgemäße Verwendung

Der Illumina MiSeqDx 139-Varianten-Assay für zystische Fibrose ist ein qualitatives *In-vitro*-Diagnostiksystem, das zum gleichzeitigen Erkennen von 139 klinisch relevanten CF-verursachenden Mutationen und Varianten des *CFTR*-Gens in genomischer, aus menschlichen peripheren Vollblutproben isolierter DNA verwendet wird. Zu den Varianten gehören diejenigen, die 2004 vom American College of Medical Genetics (ACMG)¹ und 2011 vom American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) empfohlen wurden.² Der Test wurde für das Träger-Screening bei Erwachsenen im reproduktiven Alter, als bestätigender Diagnostest bei Neugeborenen und Kindern und als erster Test zur Unterstützung der Diagnose bei Personen mit Verdacht auf zystische Fibrose entwickelt. Die Ergebnisse dieses Tests sollten von einem zertifizierten Facharzt für klinische Molekulargenetik oder einem gleichwertig qualifizierten Kollegen interpretiert und in Verbindung mit anderen verfügbaren Labor- und klinischen Informationen verwendet werden. Dieser Test ist nicht für Tests im Bereich des Neugeborenen-Screenings, der pränatalen Diagnostik und der Präimplantation sowie für unabhängige Diagnosezwecke indiziert. Der Test muss auf dem MiSeqDx-Gerät von Illumina durchgeführt werden.

Quellen zum MiSeqDx 139-Varianten-Assay für zystische Fibrose

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

MiSeq™Dx Klinischer Sequenzierungs-Assay für zystische Fibrose – bestimmungsgemäße Verwendung

Der MiSeqDx Klinischer Sequenzierungs-Assay für zystische Fibrose von Illumina ist ein *In-vitro*-Diagnostiksystem für die gezielte Sequenzierung, das die proteincodierenden Regionen und Intron-Exon-Grenzen des CFTR-Gens (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*) in genomischer DNA, die aus in K2EDTA gesammelten menschlichen peripheren Vollblutproben isoliert wurde, neu sequenziert. Der Test erkennt einzelne Nukleotidvarianten und kleine Indels innerhalb der sequenzierten Region und meldet zudem zwei tiefe intronische Mutationen und zwei große Deletionen. Der Test muss auf dem MiSeqDx-Gerät von Illumina durchgeführt werden.

Der Test dient zur Unterstützung der Diagnose von Personen mit Verdacht auf zystische Fibrose (CF). Dieser Assay ist am besten geeignet, wenn der Patient eine atypische oder nicht klassische Form von CF aufweist oder wenn andere Mutationspanels die beiden verursachenden Mutationen nicht nachweisen konnten.

Die Ergebnisse des Tests sollten von einem zertifizierten klinischen Molekulargenetiker oder einem gleichwertig qualifizierten Kollegen interpretiert werden und in Verbindung mit anderen verfügbaren Informationen, wie z. B. klinischen Symptomen, anderen Diagnostiktests und der Krankheitsgeschichte der Familie, verwendet werden. Dieser Test ist nicht für unabhängige Diagnosezwecke, die pränatale Diagnostik, Präimplantationstests, Träger-Screenings, Neugeborenen-Screenings oder Bevölkerungs-Screenings vorgesehen.

TruSeq™ Custom Amplicon Kit Dx – bestimmungsgemäße Verwendung

Das Illumina TruSeq Custom Amplicon Kit Dx besteht aus einem Satz Reagenzien und Verbrauchsmaterialien, die zur Vorbereitung von Probenbibliotheken aus DNA verwendet werden, die aus peripherem Vollblut und formalinfixiertem, in Paraffin eingebettetem (FFPE) Gewebe gewonnen wurde. Vom Benutzer bereitgestellte Analyt-spezifische Reagenzien werden für die Vorbereitung von Bibliotheken benötigt, die auf spezifische genomische Regionen von Interesse abzielen. Die generierten Probenbibliotheken sind für die Verwendung auf Hochdurchsatz-DNA-Sequenzanalysegeräten von Illumina vorgesehen.

Extended RAS Panel – Kurze Erklärung**Bestimmungsgemäße Verwendung**

Das Praxis™ Extended RAS Panel ist ein qualitativer *In-vitro*-Diagnostest, der mithilfe der zielgerichteten parallelen Hochdurchsatzsequenzierung 56 spezifische Mutationen in RAS-Genen [*KRAS* (Exons 2, 3 und 4) und *NRAS* (Exons 2, 3 und 4)] in DNA erkennt, die aus formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten mCRC-Gewebebeurproben extrahiert wurde. Das Praxis™ Extended RAS Panel ist als Hilfsmittel zur Feststellung der Eignung von Patienten mit kolorektalem Karzinom für eine Behandlung mit Vectibix® (Panitumumab)¹ bestimmt. Die Eignung wird anhand nicht vorliegender Mutationen bewertet. Der Test muss auf dem MiSeqDx®-Gerät von Illumina durchgeführt werden.

Relevante Warnhinweise und Einschränkungen

- Das Produkt ist verschreibungspflichtig.
- Zur Gewährleistung einer optimalen Testleistung ist ein ordnungsgemäßer Umgang mit den Proben, wie in der Gebrauchsanweisung beschrieben, erforderlich.
- Der Extended RAS Panel Report ermittelt nur das Vorhandensein oder Fehlen der in der Packungsbeilage aufgeführten *KRAS*- und *NRAS*-Mutationen.^{2,3}
- Bei Proben, die die DNA-Qualifikation gemäß den in der Gebrauchsanweisung beschriebenen Anforderungen bestehen, liegt die geschätzte Ungültigkeitsrate des Assays nach den Ergebnissen der retrospektiven klinischen bzw. Genauigkeitsstudie zwischen 6,9 % und 14,5 %.
- Die Risiken des Extended RAS Panels bestehen in einem potenziellen Missmanagement von Patienten, das sich aus falschen Testergebnissen ergibt. Ein falsch positives Testergebnis kann dazu führen, dass die Vectibix-Behandlung einem Patienten vorenthalten wird, der möglicherweise davon profitiert hätte. Ein falsch negatives Testergebnis kann dazu führen, dass einem Patienten Vectibix verabreicht wird, obwohl keine positiven Behandlungsergebnisse zu erwarten sind. Dieser Patient wird dadurch dem Risiko der mit dieser Therapie verbundenen unerwünschten Nebenwirkungen ausgesetzt und erhält möglicherweise nicht ein für ihn besser geeignetes Medikament als Vectibix.
- Labors sollten Sicherheitsvorkehrungen treffen, da einige Komponenten potenziell gefährliche Chemikalien enthalten. Durch Einatmen, orale Aufnahme, Haut- und Augenkontakt kann es zu Verletzungen von Personen kommen.

Quellen zum Extended RAS Panel

1. Vollständige [Verschreibungsinformationen](#) zu Vectibix, einschließlich Boxed Warnings (Warnhinweise zu Nebenwirkungen).
2. Extended RAS Panel [Packungsbeilage](#).
3. [Übersicht über die Daten zu Sicherheit und Wirksamkeit](#) (Summary of Safety and Effectiveness Data).

Illumina, Inc. • Tel. USA (gebührenfrei) 1.800.809.4566 • Tel. außerhalb Nordamerikas +1.858.202.4566 • techsupport@illumina.com • www.illumina.com

© 2017 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Illumina, MiSeqDx, MiSeq, TruSeq und die kürbisorange Farbe sind Marken von Illumina, Inc. und/oder ihren Partner-/Tochtergesellschaften in den USA und/oder anderen Ländern. Alle anderen Namen, Logos und Marken sind Eigentum der jeweiligen Eigentümer. Dokument-Nr. 1000000046956 v00 DEU QB-Nr. 5241

