

NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles)

ZA IN VITRO DIJAGNOSTIKU

Kataloški broj 20028871

Namjena

illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) komplet je reagensa i potrošnog materijala namijenjenih sekvenciranju biblioteka uzoraka za upotrebu s odobrenim analizama. Komplet je namijenjen upotrebi s instrumentom NextSeq 550Dx i analitičkim softverom.

Načela postupka

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) specijaliziran je komplet reagensa i potrošne opreme za jednokratnu upotrebu pri sekvenciranju na instrumentu NextSeq 550Dx. NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) kao ulaz upotrebljava biblioteke generirane iz DNK kod kojih se amplificiranim ciljnim vrijednostima dodaju indeksi uzorka i prikupljene sekvence. Biblioteke uzoraka izrađuju se na protočnoj jedinici i sekvenciraju na instrumentu pomoću kemijskog postupka sekvenciranja sintezom (SBS). Kemijski postupak SBS upotrebljava metodu reverzibilnog terminatora za otkrivanje fluorescentno označenih jednonukleotidnih baza dok se one umeću u rastuće DNK lance. Broj biblioteka s uzorcima ovisi o multipleksu koji podržava dolazni način pripreme biblioteke.

U priloženim uputama za *instrument NextSeq 550Dx* nalaze se upute za provođenje sekvenciranja na instrumentu NextSeq 550Dx.

Karakteristike performansi i ograničenja postupka za komplet reagensa NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) utemeljeni su korištenjem modula za varijante linija spolnih stanica i somatskih varijanti za softver Local Run Manager.

Ograničenje postupka

- 1 Za *in vitro* dijagnostiku.
- 2 Čitanja s promjenama u genetskom kodu (umetanjima, brisanjima ili kombinacijama) gdje je duljina sadržaja > 25 parova baze (bp) nisu u skladu sa softverom za analizu. Zbog toga softver za analizu ne može detektirati čitanja duljine > 25 bp.
- 3 Softver za analizu možda neće poravnati čitanja ampikona s ekstremnim sadržajem, što rezultira prijavljivanjem regije kao populacije divljeg tipa. Ekstremni sadržaj obuhvaća sljedeće:
 - ▶ očitavanja koja sadrže više od tri promjene genetskog koda
 - ▶ očitavanja duljine najmanje 30 bp sa sadržajem varijante s jednim nukleotidom (SNV) > 4 % od ukupne ciljne duljine ampikona (bez regija sonde)
 - ▶ očitavanja duljine < 30 bp sa sadržajem SNV-a > 10 % od ukupne ciljne duljine ampikona (s regijama sonde)
- 4 Velike varijante, uključujući varijante s više nukleotida (MNV-ove) i velike promjene genetskog koda, moguće je prijaviti kao manje varijante u izlaznoj VCF datoteci.
- 5 Varijante brisanja moguće je filtrirati ili propustiti kada se prostiru duž ampikona s dvije površine ako je duljina brisanja veća od preklapanja između ampikona s više površina ili pak jednaka njemu.

- 6 Sustav ne može detektirati promjene u genetskom kodu ako se javljaju odmah uz primer i ako nema preklapajućih amplikona. U slučaju regija s preklapajućim amplikonima, analiza ne može detektirati brisanja kada je regija preklapanja manja od veličine brisanja koje je potrebno detektirati. Tako, primjerice, ako su regija preklapanja između dva susjedna amplikona dvije baze, analiza neće detektirati brisanja koja obuhvaćaju te dvije baze. Brisanje jedne od tih baza moguće je detektirati.
- 7 Kao i u svakom drugom tijeku rada pripreme biblioteke utemeljene na hibridizaciji, pozadinski polimorfizmi, mutacije, umetanja ili brisanja na području regija koje vežu oligonukleotide mogu utjecati na ispitivanje alela i, posljedično, na odluke donesene tijekom sekvenciranja. Na primjer:
 - ▶ Varijanta u fazi s varijantom u regiji primera možda neće biti pojačana u slučaju lažno negativnog rezultata.
 - ▶ Varijante u regiji primera mogu spriječiti pojačanje referentnog alela, što rezultira netočno homozigotnim oblikom varijante.
 - ▶ Varijante promjena genetskog koda u regiji primera mogu uzrokovati lažno pozitivan rezultat pri kraju čitanja u blizini primera.
- 8 Promjene genetskog koda moguće je filtrirati zahvaljujući toleranciji lanca koja se javlja pri kraju jednog čitanja, zbog čega se one tijekom poravnanja ignoriraju.
- 9 Mali MNV-ovi nisu validirani i prijavljuju se samo u modulu somatskih varijanti.
- 10 Brisanja se prijavljuju u VCF-u na koordinatama prethodne baze u skladu s VCF formatom. Stoga razmislite o susjednim varijantama prije prijavljivanja da je pojedina baza homozigotna referenca.
- 11 Ograničenja specifična za zametne stanice:
 - ▶ Kombinacija instrumenta NextSeq 550Dx i modula za analizu Local Run Manager Germline Variant za NextSeq 550Dx namijenjena je za izradu kvalitativnih rezultata za raspoznavanje varijanti linija spolnih stanica (npr. homozigotne, heterozigotne, divljeg tipa).
 - ▶ Kad se upotrebljava s modulom Germline Variant Module, minimalna pokrivenost po amplikonu potrebna za točno prepoznavanje varijante iznosi 150x. Kao rezultat potrebno je 150 fragmenata DNK, što je jednako 300 očitavanja s preklapajućim uparenim krajevima. Broj uzoraka i ukupan broj ciljanih baza utječu na pokrivenost. Na pokrivenost mogu utjecati sadržaj GC i drugi genomski sadržaj.
 - ▶ Kopiranje broja varijanti može utjecati na to hoće li varijanta biti prepoznata kao homozigotna ili heterozigotna.
 - ▶ Varijante se u određenim ponavljajućim kontekstima filtriraju iz VCF datoteka. Filtar za ponavljanje parametra RMxN koristi se za filtriranje varijanti ako su svi ili dijelovi niza varijanti prisutni više puta u referentnom genomu u blizini položaja varijante. Pri određivanju varijanti zametnih stanica za filtriranje varijante potrebno je najmanje devet ponavljanja u referentnom sadržaju, a u obzir se uzimaju samo ponavljanja s najviše 5 bp (R5x9).
 - ▶ Promjena genetskog sadržaja i SNV na jednom lokusu mogu rezultirati prijavljivanjem samo jedne varijante.
- 12 Ograničenja specifična za somatske varijante:
 - ▶ Instrument NextSeq 550Dx pomoću modula somatske varijante softvera Local Run Manager za NextSeq 550Dx dizajniran je za pružanje kvalitativnih rezultata za određivanje somatskih varijanti (npr. prisutnosti somatske varijante s frekvencijom varijante $\geq 0,026$ i granicom detekcije 0,05).
 - ▶ Kad se upotrebljava s modulom Somatic Variant Module, minimalna pokrivenost po amplikonu potrebna za točno prepoznavanje varijante iznosi 450x po skupini oligonukleotida. Stoga je potrebno 450 potpornih DNA fragmenata po skupini oligonukleotida, što odgovara brojcima od 900 čitanja s uparenim krajevima koja se preklapaju. Broj uzoraka i ukupan broj ciljanih baza utječu na pokrivenost. Na pokrivenost mogu utjecati sadržaj GC i drugi genomski sadržaj.
 - ▶ Pri određivanju varijanti somatskih stanica za filtriranje varijante potrebno je najmanje šest ponavljanja u referentnom sadržaju, a u obzir se uzimaju samo ponavljanja s najviše 3 bp (R3x6).
 - ▶ Modul somatske varijante ne može razlikovati varijante zametne stanice od somatskih varijanti. Modul je dizajniran radi detektiranja varijanti na različitim frekvencijama, no frekvencija varijanti ne može se koristiti za razlikovanje somatskih varijanti od varijanti zametnih stanica.
 - ▶ Normalno tkivo uzorka utječe na detekciju varijanti. Prijavljeno ograničenje detekcije utemeljeno je na frekvenciji varijante u odnosu na ukupni DNK izvučen iz tkiva s tumorom i normalnog tkiva.

Komponente kompleta reagensa

Svaka komponenta kompleta NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) dolazi u zasebnoj kutiji. Odmah uskladištite komponente na navedenoj temperaturi kako biste osigurali ispravna radna svojstva. U nastavku je naveden popis komponenata kompleta reagensa.

Tablica 1 Komponente kompleta reagensa

Komponenta	Količina	Volumen ispune	Opis	Skladištenje*
NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 cycles)	1 po komadu	Razno	Reagensi za klasteriranje i sekvenciranje	od –25 °C do –15 °C
NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 cycles)	1 po komadu	Razno	Puferi i otopina za ispiranje	od 15 °C do 30 °C
NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 cycles)	1 po komadu	Nije primjenjivo	Staklena protočna jedinica za instrument s uparenim krajevima za jednokratnu upotrebu	od 2 °C do 8 °C
Kutija za dodatnu opremu NextSeq 550Dx (300 ciklusa)	1 epruveta	12 ml	Pufer za razrjeđivanje biblioteke	od –25 °C do –15 °C

*NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 cycles) isporučuje se na sobnoj temperaturi.

Serijski brojevi

Komplet reagensa ima jedan serijski broj koji se naziva serijskim brojem kompleta reagensa. Na svakoj kutiji u kompletu reagensa otisnut je serijski broj kompleta reagensa. Komponente kompleta reagensa koje se nalaze u kutijama označene su serijskim brojevima specifičnim za komponentu, koji se razlikuju od serijskog broja kompleta reagensa. Držite potrošni materijal za sekvenciranje u pripadajućim kutijama do trenutka upotrebe da biste znali kojoj seriji kompleta pripada. Pojediniosti o brojevima dijelova i serijskim brojevima pojedinih reagensa potražite u certifikatu analize kompleta reagensa.

Skladištenje i rukovanje

- 1 Sobna je temperatura definirana kao temperatura od 15 °C do 30 °C.
- 2 Komponente kompleta reagensa stabilne su kada se skladište na navedenim temperaturama za skladištenje sve do datuma isteka valjanosti navedenog na naljepnici.
- 3 Kutija za dodatnu opremu NextSeq 550Dx i spremnik reagensa NextSeq 550Dx stabilni su najviše jedno odmrzavanje na sobnoj temperaturi prije navedenog datuma isteka valjanosti. Spremnik reagensa stabilan je do 6 sati kada je odmrznut u vodenoj kupki sobne temperature. Moguće je spremnik reagensa odmrznuti i na temperaturu od 2 °C do 8 °C do 5 dana prije upotrebe.
- 4 Promjene fizičkog izgleda reagensa mogu upućivati na propadanje materijala. Ako se promjene fizičkog izgleda pojave nakon miješanja, kao što su očite promjene boje reagensa ili zamućenost koja upućuje na kontaminaciju mikrobima, reagens nemojte upotrebljavati.

Potrebna oprema i materijali, prodaju se zasebno

- ▶ Instrument NextSeq 550Dx, kataloški broj 20005715

Upozorenja i mjere opreza



OPREZ

Savezni zakon propisuje da ovaj proizvod mogu prodavati samo liječnici ili drugi stručnjaci koje je licencirala država u kojoj oni djeluju te da se proizvod može prodavati samo na njihov recept za upotrebu ili propisanu upotrebu proizvoda.

- NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) sadrži potencijalno opasne kemikalije. Uslijed udisanja, gutanja te dodira s kožom i očima može doći do tjelesnih ozljeda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijsku kutu prikladnu za rizik od izlaganja. Iskorištenim reagensima rukujte kao kemijskim otpadom i zbrinite ih u skladu s odgovarajućim regionalnim, nacionalnim i mjesnim zakonima i propisima.
- Informacije o zaštiti okoliša, zdravlju i sigurnosti potražite u sigurnosno-tehničkom listu (SDS-u) na web-mjestu support.illumina.com/sds.html.
- Sve ozbiljne incidente povezane s ovim proizvodom odmah prijavite tvrtki Illumina i nadležnim tijelima država članica u kojima borave korisnik i pacijent.
- Nepridržavanje navedenih procedura može rezultirati netočnim rezultatima ili znatnim smanjenjem kvalitete uzoraka.
- Pridržavajte se laboratorijskih mjera opreza. Nemojte pipetirati ustima. Nemojte jesti, piti ni pušiti u označenim prostorima za rad. Koristite rukavice za jednokratnu upotrebu i laboratorijske kute kada rukujete uzorcima i reagensima za analizu. Ruke temeljito operite nakon rukovanja uzorcima i reagensima za analizu.
- Obavezno je slijeđenje ispravnih praksi i dobre higijene u laboratorijima da bi se spriječila kontaminacija reagensa, instrumenata i genomskih DNA uzoraka PCR proizvodima. Kontaminacija PCR proizvodima može uzrokovati netočne i nepouzdan rezultate.
- Da biste spriječili kontaminaciju, provjerite upotrebljava li se u područjima prije amplifikacije i poslije amplifikacije posebna oprema (npr. pipete, nastavci pipete, vrtložna miješalica i centrifuga).

Upute za upotrebu

Pogledajte priložene upute za *instrument NextSeq 550Dx* i primjenjive referentne priručnike.

Karakteristike radnih svojstava

Pogledajte priložene upute za *instrument NextSeq 550Dx*.

Povijest revizija

Dokument	Datum	Opis promjene
Broj dokumenta 100000073349 v03	studen 2021.	Dodana izjava o upozorenjima i mjerama opreza pri prijavi ozbiljnih incidenata. Dodana tablica Povijest revizija.

Patenti i žigovi

Ovaj dokument i njegov sadržaj vlasništvo su tvrtke Illumina, Inc. i njezinih povezanih društava („Illumina“) te su namijenjeni isključivo za ugovornu upotrebu klijentima u vezi s proizvodima opisanima u njemu. Dokument i njegov sadržaj ne smiju se upotrebljavati ni distribuirati ni u koju drugu svrhu niti se smiju na neki drugi način prenositi, otkrivati ili reproducirati bez prethodnog pisanog odobrenja tvrtke Illumina. Illumina ovim dokumentom ne prenosi nikakve licence zaštićene svojim pravom na patent, žig, autorskim pravom ili običajnim pravom ni slična prava bilo koje treće strane.

Kvalificirano i odgovarajuće obučeno osoblje mora se strogo i bez iznimki pridržavati uputa u ovom dokumentu da bi se zajamčila pravilna i sigurna upotreba proizvoda opisanih u njemu. Prije upotrebe proizvoda nužno je s razumijevanjem pročitati cjelokupan sadržaj dokumenta.

AKO UPUTE U DOKUMENTU NE PROČITATE U CIJELOSTI TE IH SE NE PRIDRŽAVATE BEZ IZNIMKI, MOŽE DOĆI DO OŠTEĆENJA PROIZVODA, OZLJEDA KORISNIKA ILI DRUGIH OSOBA I DO OŠTEĆENJA DRUGE IMOVINE TE SE TIME PONIŠTAVAJU SVA JAMSTVA ZA PROIZVODE.

ILLUMINA NE PREUZIMA ODGOVORNOST ZA ŠTETE NASTALE USLIJED NEPRAVILNE UPOTREBE PROIZVODA KOJI SU OPISANI U OVOM DOKUMENTU (UKLJUČUJUĆI DIJELOVE TIH PROIZVODA I SOFTVER).

© 2021. Illumina, Inc. Sva prava pridržana.

Svi su žigovi vlasništvo tvrtke Illumina, Inc. i njezinih vlasnika. Konkretno informacije o žigovima potražite na adresi www.illumina.com/company/legal.html.

Podaci za kontakt



Illumina

5200 Illumina Way

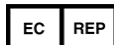
San Diego, California 92122 SAD

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (izvan Sjeverne Amerike)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

Nizozemska

Australski sponzor

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Australija

Oznaka proizvoda

Sveobuhvatno objašnjenje simbola koji se mogu pojaviti na pakiranju i naljepnicama proizvoda potražite u legendi simbola za svoj komplet na web-mjestu support.illumina.com.