

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

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK

Katalognr. 20028871

## Tiltenkt bruk

illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 sykluser) er et sett med reagenser og forbruksvarer beregnet for sekvensering av prøvebiblioteker når de brukes sammen med validerte analyser. Settet er beregnet for bruk med NextSeq 550Dx-instrumentet og analytisk programvare.

## Prosedyreprinsipper

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 sykluser) er et spesialisert sett med reagenser og forbruksmaterieell til engangsbruk som skal brukes til sekvensering på NextSeq 550Dx-instrumentet. For inndata bruker NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 sykluser) biblioteker generert fra DNA der prøveindekser og innfangingssekvenser blir lagt til forsterkede mål. Prøvebiblioteker blir innfanget på en strømningscelle og sekvensert på instrumentet ved hjelp av sekvensering ved syntesekjemi (SBS). SBS-kjemi bruker en reversibel terminator metode for å påvise fluorescensmerkede, enkle nukleotidbaser idet de blir inkorporert i voksende DNA-strenger. Antallet prøvebiblioteker er avhengig av multipleksingen som støttes av oppstrøms biblioteksklargjøringsmetode.

Pakningsvedlegget for *NextSeq 550Dx-instrumentet* gir instruksjoner for å utføre sekvensering på NextSeq 550Dx-instrumentet.

Ytelseskaraktistikker og begrensninger for prosedyren for NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 sykluser) ble etablert ved å bruke Local Run Manager-modulen for Germline og Somatic Variant.

## Prosedyremessige begrensninger

- 1 Til *in vitro*-diagnostisk bruk.
- 2 Avlesninger med indeler (innsetninger, slettinger eller kombinasjoner) der innholdslengden er > 25 basepar (bp), er ikke innrettet av analyseprogrammet. Derfor kan indeler med en lengde på >25 bp ikke påvises av analyseprogrammet.
- 3 Analyseprogrammet innretter kanskje ikke PCR-produktavlesninger med ekstremt innhold, noe som resulterer i at regionen blir rapportert som villtype. Slikt ekstremt innhold omfatter:
  - ▶ Avlesninger som inneholder mer enn tre indeler
  - ▶ Avlesninger med lengde på minst 30 bp med enkel nukleotidvariant (SNV)-innhold på > 4 % av den totale PCR-produktmållengden (unntatt probeområder)
  - ▶ avlesninger med lengde på <30 bp med SNV-innhold på >10 % av den totale PCR-produktlengden (inkludert probeområder)
- 4 Store varianter, deriblant multinukleotidvarianter (MNV-er) og store indeler, kan rapporteres som separate mindre varianter i utdata-VCF-filen.
- 5 Delesjonsvarianter kan filtreres eller utelates når de spenner over to sidestilte PCR-produkter, dersom delesjonslengden er større enn eller lik overlappingen mellom de sidestilte PCR-produktene.

- 6 Systemet kan ikke påvise indeler hvis de oppstår rett ved siden av en primer og det ikke er noe overlappende PCR-produkt. For områder med overlappende PCR-produkter kan ikke analysen påvise slettinger når overlappingsområdet er mindre enn størrelsen på slettingen som skal påvises. Hvis for eksempel overlappingsområdet mellom to tilstøtende PCR-produkter er to baser, kan analysen ikke påvise delesjoner som inkluderer begge disse basene. En enkelt basesletting på én av disse basene kan påvises.
- 7 Som ved alle hybridiseringsbaserte arbeidsprosesser for bibliotekklargjøring kan underliggende polymorfismer eller mutasjoner, innsettinger eller slettinger i oligonukleotidbindende områder påvirke allelene som sonderes, og derfor også betegnelsene som utføres under sekvensering. Eksempel:
  - ▶ En variant i fase med en variant i primerområdet kan ikke forsterkes, noe som resulterer i en falsk negativ.
  - ▶ Varianter i primerområdet kan forhindre forsterkningen av referanseallelen, noe som resulterer i feil homozygot variantbetegnelse.
  - ▶ Indelvarianter i primerområdet kan forårsake en falskt positiv betegnelse på slutten av avlesningen ved siden av primeren.
- 8 Indeler kan filtreres på grunn av strengeavvik hvis de forekommer nær enden av en avlesning og blir «soft-clipped» under innretting.
- 9 Små MNV-er har ikke blitt validert og rapporteres kun i Somatic Variant-modulen.
- 10 Slettinger rapporteres i VCF ved koordinaten til den foregående basen etter VCF-format. Derfor bør det vurderes tilstøtende varianter før rapportering om at en individuell basebetegnelse er homozygot referanse.
- 11 Germline-spesifikke begrensninger:
  - ▶ NextSeq 550Dx-instrumentet som bruker Local Run Manager Germline-variantmodulen for NextSeq 550Dx, er utviklet for å levere kvalitative resultater for germline-variantbetegnelser (f.eks. homozygot, heterozygot, villtype).
  - ▶ Ved bruk med Germline Variant-modulen er minimum dekning per PCR-produkt som er nødvendig for nøyaktig variantbetegnelse, 150x. Dermed kreves 150 støttende DNA-fragmenter, noe som tilsvarer 300 overlappende paired-end-avlesinger. Antall prøver og det totale antallet baser som er målrettet, påvirker dekningen. GC-innhold og annet genomisk innhold kan påvirke dekning.
  - ▶ Variasjon i kopinummer kan påvirke om en variant identifiseres som homozygot eller heterozygot.
  - ▶ Varianter i en viss gjentakende kontekst filtreres ut i VCF-filene. RMxN-gjentakelsesfilteret brukes til å filtrere varianter dersom hele eller deler av variantsekvensen er til stede gjentatte ganger i referansegenomet ved siden av variantposisjonen. For en kimlinjevariantbetegnelse er det nødvendig med minst ni repetisjoner i referansen for at en variant skal filtreres, og bare repetisjoner med en lengde på opptil 5 bp vurderes (R5x9).
  - ▶ En indel og en SNV på et enkelt locus kan resultere i at bare én variant blir rapportert.
- 12 Somatisk spesifikke begrensninger:
  - ▶ NextSeq 550Dx-systemet som bruker Local Run Manager somatisk variantmodul for NextSeq 550Dx, er designet for å levere kvalitative resultater for somatisk variantbetegnelse (f.eks. tilstedeværelse av en somatisk variant med en variantfrekvens på  $\geq 0,026$  med en deteksjonsgrense på 0,05).
  - ▶ Ved bruk med Somatic Variant-modulen er minimum dekning per PCR-produkt som er nødvendig for nøyaktig variantbetegnelse, 450x per oligonukleotidsammenslåing. Dermed kreves 450 støttende DNA-fragmenter per oligonukleotidsammenslåing, noe som tilsvarer 900 overlappende paired-end-avlesinger. Antall prøver og det totale antallet baser som er målrettet, påvirker dekningen. GC-innhold og annet genomisk innhold kan påvirke dekning.
  - ▶ For en somatisk variantbetegnelse er det nødvendig med minst seks repetisjoner i referansen for at varianten skal filtreres, og bare repetisjoner med en lengde på opptil 3 bp vurderes (R3x6).
  - ▶ Den somatiske variantmodulen kan ikke skille mellom kimlinjevarianter og somatiske varianter. Modulen er utformet for å påvise varianter over en rekke variantfrekvenser, men variantfrekvens kan ikke brukes til å skille mellom somatiske varianter og kimlinjevarianter.
  - ▶ Normalt vev i prøven påvirker påvisningen av varianter. Den rapporterte påvisningsgrensen er basert på en variantfrekvens i forhold til det totale DNA-et som ekstraheres fra både tumor og normalt vev.

## Komponenter i reagenssettet

Hver komponent i NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 sykluser) leveres i en egen eske. Komponentene må straks settes til oppbevaring ved angitt temperatur for å sikre riktig ytelse. Følgende er en liste over komponenter i reagenssettet.

Tabell 1 Komponenter i reagenssettet

Komponent	Kvantitet	Fyllingsvolum	Beskrivelse	Oppbevaring*
NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 sykluser)	1 hver	Varies	Klynge- og sekvenseringsreagenser	-25 °C til -15 °C
NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 sykluser)	1 hver	Varies	Buffer og vaskeløsning	15 °C til 30 °C
NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 sykluser)	1 hver	I/A	Paired-end glasstrømningscelle til engangsbruk	2 °C til 8 °C
NextSeq 550Dx Accessory Box (300 sykluser)	1 rør	12 ml	Bibliotekfortynningsbuffer	-25 °C til -15 °C

\*NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 sykluser) sendes ved omgivelsestemperatur.

## Lotnumre

Reagenssettet har et enkelt lotnummer, som refereres til som reagenssettets lotnummer. Hver eske i reagenssettet er påtrykt reagenssettets lotnummer. Reagenssettets komponenter som er inne i eskene, er påtrykt komponentspesifikke lotnumre som er forskjellige fra reagenssettets lotnummer. Oppbevar forbruksmaterieell for sekvensering i de respektive eskene frem til de skal brukes, for å opprettholde setttilknytningen. Se analysesertifikatet for reagenssettet for detaljer om reagensdelenumre og lotnumre.

## Oppbevaring og håndtering

- 1 Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.
- 2 Komponentene i reagenssettet er stabile når de oppbevares i henhold til de angitte oppbevaringstemperaturene frem til utløpsdatoen på etiketten.
- 3 NextSeq 550Dx-tilbehørsesken og NextSeq 550Dx-reagenskassetten er stabile i maks. én tinesyklus til romtemperatur før angitt utløpsdato. Reagenskassetten er stabil i opptil 6 timer når den tines i et vannbad med romtemperatur. Alternativt kan reagenskassetten tines ved 2 °C til 8 °C i opptil 5 dager før bruk.
- 4 Endringer i reagensenes fysiske utseende kan indikere nedbryting av materialene. Hvis det forekommer endringer i det fysiske utseendet etter blanding, for eksempel tydelige endringer i reagensfarge eller uklarhet sammen med mikrobiell kontaminasjon, skal reagensene ikke brukes.

## Nødvendig utstyr og materialer selges separat

- ▶ NextSeq 550Dx-instrument, katalognr. 20005715

## Advarsler og forholdsregler



### FORSIKTIG

Føderal lov begrenser denne enheten til salg av, eller på bestilling av, en lege eller annet fagpersonell, lovmessig lisensiert i staten vedkommende praktiserer, for å bruke eller pålegge bruk av enheten.

- 1 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 sykluser) inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter.
- 2 Du finner informasjon om helse, miljø og sikkerhet i sikkerhetsdatabladet (SDS) på [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).
- 3 Alvorlige uønskede hendelser knyttet til dette produktet skal umiddelbart rapporteres til Illumina og aktuelle myndigheter i landet der brukeren og pasienten befinner seg.
- 4 Hvis du unnlater å følge prosedyrene som beskrevet, kan det resultere i feil resultater eller betydelig reduksjon i prøve kvaliteten.
- 5 Bruk rutinemessige forholdsregler for laboratoriet. Ikke pipetter med munnen. Ikke spis, drikk eller røyk i utpekte arbeidsområder. Bruk engangshansker og laboratoriefrakker når du håndterer prøver og analysereagenser. Vask hendene grundig etter å ha håndtert prøvene og analysereagensene.
- 6 Riktig laboratoriepraksis og god laboratoriehygiene er nødvendig for å forhindre at PCR-produkter kontaminerer reagenser, instrumentering og genomiske DNA-prøver. PCR-kontaminasjon kan medføre unøyaktige og upålitelige resultater.
- 7 For å hindre kontaminasjon må du kontrollere at preforsterknings- og postforsterkningsområdene har sitt eget utstyr (som dråpetellere, dråpetellerspisser, roterer og sentrifuge).

## Bruksanvisning

Se pakningsvedlegget for *NextSeq 550Dx-instrumentet* og gjeldende referanseveiledninger.

## Ytelseskarakteristikk

Se pakningsvedlegget for *NextSeq 550Dx-instrumentet*.

## Revisjonshistorikk

Dokument	Dato	Beskrivelse av endring
Dokumentnr. 100000073349 v03	November 2021	La til merknad om advarsler og forholdsregler for rapportering av alvorlige hendelser. La til tabell for revisjonslogg.

## Patenter og varemerker

Dette dokumentet og dets innhold er opphavsrettslig beskyttet for Illumina, Inc. og tilknyttede selskaper («Illumina»), og er ment utelukkende for kontraktbruk av kunden i forbindelse med bruk av produktet (produktene) beskrevet her, og for intet annet formål. Dette dokumentet og dets innhold skal ikke brukes eller distribueres til andre formål og/eller på annen måte kommuniseres, fremlegges eller reproduseres på noen måte uten forutgående, skriftlig samtykke fra Illumina. Illumina overfører ikke noen lisens under sitt patent, varemerke, opphavsrett eller sedvanerett eller lignende rettigheter til tredjeparter gjennom dette dokumentet.

Instruksjonene i dette dokumentet skal følges strengt og tydelig av kvalifisert og tilfredsstillende utdannet personell for å sikre riktig og sikker bruk av produktet (produktene) som er beskrevet i dette dokumentet. Alt innhold i dette dokumentet skal leses fullt ut og være forstått før produktet (produktene) brukes.

HVIS DET UNNLATES Å LESE FULLSTENDIG OG UTTRYKkelig FØLGE ALLE INSTRUKSJONENE I DETTE DOKUMENTET, KAN DET FØRE TIL SKADE PÅ PRODUKTET (PRODUKTENE), SKADE PÅ PERSONER, INKLUDERT BRUKERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANNEN EIENDOM, OG DETTE VIL UGYLDIGGJØRE EVENTUELL GARANTI SOM GJELDER FOR PRODUKTET (PRODUKTENE).

ILLUMINA PÅTAR SEG IKKE ANSVAR SOM FØLGE AV FEIL BRUK AV PRODUKTET (PRODUKTENE) SOM ER BESKREVET I DETTE DOKUMENTET (INKLUDERT DELER AV DETTE ELLER PROGRAMVARE).

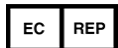
© 2021 Illumina, Inc. Med enerett.

Alle varemerker tilhører Illumina, Inc. eller deres respektive eiere. Ytterligere informasjon om varemerker finner du på [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Kontaktinformasjon



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California, 92122 USA  
+1 800 809 ILMN (4566)  
+1 858 202 4566 (utenfor Nord-Amerika)  
[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)  
[www.illumina.com](http://www.illumina.com)



Illumina Netherlands B.V.  
Steenoven 19  
5626 DK Eindhoven  
Nederland

### **Australsk sponsor**

Illumina Australia Pty Ltd  
Nursing Association Building  
Level 3, 535 Elizabeth Street  
Melbourne, VIC 3000  
Australia

## Produktmerking

Du finner en fullstendig liste over og forklaring på symboler som kan stå på produktemballasjen og i dokumentasjonen for settet du har, på [support.illumina.com](http://support.illumina.com).