

Zestaw odczynników na 300 cykli NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles)

DO STOSOWANIA W DIAGNOSTYCE IN VITRO

Nr kat.: 20028871

Przeznaczenie

Zestaw odczynników na 300 cykli Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) to zestaw odczynników oraz materiałów eksploatacyjnych przeznaczonych do sekwencjonowania bibliotek próbek podczas stosowania ze zweryfikowanymi oznaczeniami. Zestaw jest przeznaczony do stosowania w połączeniu z aparatem NextSeq 550Dx i oprogramowaniem analitycznym.

Zasady dotyczące procedury

Zestaw odczynników na 300 cykli NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) to specjalistyczny jednorazowy zestaw odczynników oraz materiałów eksploatacyjnych przeznaczonych do sekwencjonowania w aparacie NextSeq 550Dx. Funkcję danych wejściowych w przypadku zestawu na 300 cykli NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) stanowią biblioteki generowane z DNA, w których do amplifikowanych sekwencji docelowych dodawane są indeksy próbek i sekwencje przechwytywania. Biblioteki próbek są przechwytywane w komorze przepływowej i sekwencjonowane w aparacie przy użyciu technologii sekwencjonowania przez syntezę (SBS, Sequencing By Synthesis). W technologii SBS stosowana jest metoda terminatora odwracalnego, służąca do wykrywania fluorescencyjnie znakowanych pojedynczych nukleotydów w miarę ich wiązania w rosnących łańcuchach DNA. Liczba bibliotek próbek jest zależna od multipleksowania będącego składową wcześniejszej metody przygotowania biblioteki.

Instrukcje przeprowadzania sekwencjonowania za pomocą aparatu NextSeq 550Dx zawiera ulotka dołączona do opakowania *aparatu NextSeq 550Dx*.

Charakterystykę działania produktu oraz ograniczenia procedury obowiązującej dla zestawu na 300 cykli NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) określono z wykorzystaniem modułów analizy wariantów linii zarodkowej i analizy wariantów somatycznych lokalnego menedżera przebiegu.

Ograniczenia dotyczące procedury

- 1 Do celów diagnostyki *in vitro*.
- 2 Oprogramowanie do oznaczeń nie dopasowuje odczytów z polimorfizmami typu indel (insercjami, delecjami bądź ich kombinacjami), w przypadku których długość zawartości wynosi > 25 par nukleotydów (bp, base pair). W rezultacie oprogramowanie do oznaczeń nie wykrywa polimorfizmów typu indel o długości > 25 bp.
- 3 Oprogramowanie do oznaczeń może nie dopasowywać odczytów amplikonów z ekstremalną zawartością, co prowadzi do zgłoszenia regionu jako typu dzikiego. Taka ekstremalna zawartość obejmuje:
 - ▶ Odczyty zawierające ponad trzy polimorfizmy typu indel.
 - ▶ Odczyty o długości co najmniej 30 bp z wariantem pojedynczego nukleotydu (SNV, single nucleotide variant) > 4% całkowitej długości docelowego amplikonu (z wykluczeniem regionów sondy).
 - ▶ Odczyty o długości < 30 bp o zawartości SNV > 10% całkowitej długości amplikonu (z uwzględnieniem regionów sondy).
- 4 Duże warianty, w tym warianty wielonukleotydowe (MNV, Multi-Nucleotide Variant) i duże polimorfizmy typu indel, mogą zostać zgłoszone jako odrębne mniejsze warianty w wyjściowym pliku VCF.

- 5 Warianty delecji mogą być filtrowane lub pominięte w przypadku rozciągnięcia na dwa sąsiednie amplikony, jeśli długość delecji jest większa lub równa nałożeniu pomiędzy sąsiednimi amplikonami.
- 6 System nie jest w stanie wykryć polimorfizmów typu indel, jeśli występują bezpośrednio obok startera i nie ma nakładającego się amplikonu. W przypadku regionów z nakładającymi się amplikonami oznaczenie nie pozwala wykryć delecji, kiedy region nałożenia jest mniejszy niż rozmiar wykrywanej delecji. Na przykład: jeśli region nałożenia pomiędzy dwoma sąsiednimi amplikonami obejmuje dwa nukleotydy, oznaczenie nie pozwala wykryć żadnych delecji obejmujących oba te nukleotydy. Delecja pojedynczego nukleotydu na dowolnym z tych nukleotydów może zostać wykryta.
- 7 Podobnie jak w przypadku procedur przygotowania bibliotek opartych na hybrydyzacji, odpowiednie polimorfizmy, mutacje, insercje lub delecje w regionach wiązań oligonukleotydów mogą mieć wpływ na badane allele, a w związku z tym na rozpoznania nukleotydów podczas sekwencjonowania. Na przykład:
 - ▶ Wariant w fazie z wariantem w regionie startera może nie ulec amplifikacji, dając wynik fałszywie ujemny.
 - ▶ Warianty w regionie startera mogą uniemożliwić amplifikację allelu referencyjnego, prowadząc do nieprawidłowego wykrycia wariantu homozygotycznego.
 - ▶ Warianty typu indel w regionie startera mogą doprowadzić do fałszywie dodatniego rozpoznania pod koniec odczytu w sąsiedztwie startera.
- 8 Polimorfizmy typu indel można filtrować na podstawie obciążenia systematycznego nici, jeśli występują w pobliżu końca odczytu i są poddawane procesowi soft-clippingu podczas dopasowania.
- 9 Małe warianty MNV mogą nie zostać zwalidowane i są zgłaszane wyłącznie w module wykrywania wariantów somatycznych.
- 10 Delecje są zgłaszane w pliku VCF we współrzędnej poprzedniego nukleotydu według formatu VCF. W związku z tym należy uwzględnić sąsiednie warianty przed zgłoszeniem, że rozpoznanie danego nukleotydu jest odniesieniem homozygotycznym.
- 11 Ograniczenia specyficzne dla linii zarodkowej:
 - ▶ Aparat NextSeq 550Dx, korzystający z modułu lokalnego menedżera przebiegu w systemie NextSeq 550Dx do wykrywania wariantów linii zarodkowej, jest przeznaczony do dostarczania jakościowych wyników rozpoznawania wariantów linii zarodkowej (np. homozygotycznych, heterozygotycznych, typu dzikiego).
 - ▶ W przypadku stosowania z modułem do wykrywania wariantów linii zarodkowej minimalne pokrycie na amplikon niezbędne do dokładnego rozpoznania wariantu wynosi 150x. W konsekwencji wymaganych jest 150 potwierdzających fragmentów DNA, co odpowiada 300 nakładającym się odczytom w trybie sparowanych końców. Liczba próbek i łączna liczba celowanych nukleotydów wpływają na pokrycie. Zawartość GC i inna zawartość genomowa mogą wpływać na pokrycie.
 - ▶ Zmienność liczby kopii może wpływać na to, czy wariant zostanie rozpoznany jako homo- czy heterozygotyczny.
 - ▶ Warianty w pewnym powtarzalnym kontekście są wyfiltrowywane w plikach VCF. Filtr powtórzeń RMxN jest stosowany do filtrowania wariantów, jeśli całość lub część sekwencji wariantu występuje powtarzalnie w genomie referencyjnym sąsiadującym z pozycją wariantu. W przypadku rozpoznawania wariantów linii zarodkowej potrzeba co najmniej dziewięciu powtórzeń w regionie referencyjnym do wyfiltrowania wariantu, przy czym uwzględniane są tylko powtórzenia o długości do 5 bp (R5x9).
 - ▶ Polimorfizm typu indel oraz wariant SNV w pojedynczym locus może skutkować zgłoszeniem tylko jednego wariantu.
- 12 Ograniczenia swoiste dla wariantów somatycznych:
 - ▶ Aparat NextSeq 550Dx, wykorzystujący moduł do wykrywania wariantów somatycznych lokalnego menedżera przebiegu, jest przeznaczony do dostarczania jakościowych wyników w celu rozpoznawania wariantów somatycznych (np. obecności wariantu somatycznego o częstości występowania wariantu $\geq 0,026$ przy granicy wykrywalności wynoszącej 0,05).
 - ▶ W przypadku stosowania z modułem do wykrywania wariantów linii somatycznej minimalne pokrycie na amplikon niezbędne do dokładnego rozpoznania wariantu wynosi 450x na pulę oligonukleotydów. W konsekwencji wymaganych jest 450 potwierdzających fragmentów DNA na pulę oligonukleotydów, co odpowiada 900 nakładającym się odczytom w trybie sparowanych końców. Liczba próbek i łączna liczba celowanych nukleotydów wpływają na pokrycie. Zawartość GC i inna zawartość genomowa mogą wpływać na pokrycie.

- ▶ W przypadku rozpoznawania wariantów linii somatycznej potrzeba co najmniej sześciu powtórzeń w regionie referencyjnym do wyfiltrowania wariantu, przy czym uwzględniane są tylko powtórzenia o długości do 3 bp (R3x6).
- ▶ Moduł do wykrywania wariantów somatycznych nie jest w stanie odróżnić wariantów linii zarodkowej od wariantów somatycznych. Moduł jest przeznaczony do wykrywania wariantów o różnych częstościach wariantu, jednak częstości wariantu nie można użyć do odróżnienia wariantów somatycznych od wariantów linii zarodkowej.
- ▶ Obecność prawidłowej tkanki w próbce wpływa na wykrywanie wariantów. Zgłoszona granica wykrywalności jest oparta na częstości wariantu względem całkowitego DNA wyekstrahowanego z tkanki nowotworowej i prawidłowej.

Elementy zestawu odczynników

Każdy element zestawu odczynników na 300 cykli NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) jest dostarczany w osobnym opakowaniu. Należy niezwłocznie umieścić elementy we wskazanej temperaturze w celu zapewnienia poprawnego działania. Poniżej znajduje się lista elementów zestawu.

Tabela 1 Elementy zestawu odczynników

Element	Ilość	Objętość wypełnienia	Opis	Przechowywanie*
Kaseta z odczynnikami na 300 cykli NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 cycles)	1 szt.	Różne	Odczynniki do klastrowania i sekwencjonowania	Od -25°C do -15°C
Kaseta z buforem na 300 cykli NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 cycles)	1 szt.	Różne	Bufory i roztwór płuczący	Od 15°C do 30°C
Kaseta z komorą przepływową na 300 cykli NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 cycles)	1 szt.	Nd.	Jednorazowa, szklana komora przepływowa (sekwencjonowanie w trybie sparowanych końców)	Od 2°C do 8°C
Zestaw akcesoriów na 300 cykli NextSeq 550Dx Accessory Box (300 cycles)	1 probówka	12 ml	Bufor do rozcieńczeń biblioteki	Od -25°C do -15°C

* Kaseta z komorą przepływową na 300 cykli NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 cycles) jest dostarczana w temperaturze otoczenia.

Numery partii

Zestaw odczynników posiada pojedynczy numer partii, który jest uznawany za numer partii zestawu odczynników. Na każdym opakowaniu w zestawie odczynników jest nadrukowany numer partii zestawu odczynników. Na elementach zestawu odczynników znajdujących się wewnątrz opakowań są nadrukowane numery partii specyficzne dla elementu, które różnią się od numeru partii zestawu odczynników. W celu zachowania powiązania z numerem partii zestawu materiały eksploatacyjne do sekwencjonowania należy przed użyciem przechowywać w opakowaniach. Szczegółowe informacje na temat numerów katalogowych i numerów partii odczynników, patrz certyfikat analizy zestawu odczynników.

Przechowywanie i sposób postępowania

- 1 Temperaturę pokojową zdefiniowano jako 15°C do 30°C.
- 2 Elementy zestawu odczynników zachowują stabilność do terminu ważności podanego na etykiecie pod warunkiem przechowywania we wskazanych temperaturach przechowywania.
- 3 Zestaw akcesoriów NextSeq 550Dx i kaseta z odczynnikami NextSeq 550Dx zachowują stabilność przez maksymalnie jedno rozmrażanie do temperatury pokojowej przed podanym terminem ważności. Kaseta z odczynnikami zachowuje stabilność przez maksymalnie 6 godzin po rozmrożeniu w łaźni wodnej o temperaturze pokojowej. Alternatywnie kasetę z odczynnikami można rozmrozić w temperaturze od 2°C do 8°C nie wcześniej niż 5 dni przed użyciem.

- 4 Zmiany w fizycznym wyglądzie odczynników mogą wskazywać na pogorszenie się stanu materiałów. Jeśli po wymieszaniu wystąpią zmiany w wyglądzie fizycznym, takie jak oczywiste zmiany koloru odczynnika lub zmętnienie widoczne w wyniku skażenia mikrobiologicznego, odczynników nie należy używać.

Wymagane wyposażenie i materiały, sprzedawane osobno

- ▶ Aparat NextSeq 550Dx, nr kat.: 20005715

Ostrzeżenia i środki ostrożności



PRZESTROGA

Prawo federalne dopuszcza sprzedaż tego urządzenia do użytku lub zlecenia użytku wyłącznie przez lekarza lub na jego zlecenie, bądź innego specjalistę posiadającego ważną licencję stanu, w którym prowadzi praktykę.

- 1 Zestaw odczynników na 300 cykli NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) zawiera potencjalnie niebezpieczne substancje chemiczne. Wdychanie, połknięcie, kontakt ze skórą i oczami mogą powodować uszczerbek na zdrowiu. Należy nosić wyposażenie ochronne, w tym ochronę oczu, rękawiczki oraz fartuch laboratoryjny odpowiednio do ryzyka narażenia. Zużyte odczynniki należy traktować jako odpady chemiczne i utylizować je zgodnie z odpowiednimi przepisami regionalnymi, krajowymi i lokalnymi.
- 2 Informacje dotyczące ochrony środowiska, zdrowia i bezpieczeństwa zawiera karta charakterystyki (SDS, Safety Data Sheet) dostępna na stronie support.illumina.com/sds.html.
- 3 Wszelkie poważne incydenty związane z tym produktem należy niezwłocznie zgłaszać do firmy Illumina i właściwych organów państw członkowskich, w których przebywają użytkownik i pacjent.
- 4 Nieprzestrzeganie przedstawionych procedur może powodować błędy w wynikach lub znaczne obniżenie jakości próbek.
- 5 Należy przestrzegać środków ostrożności dotyczących rutynowych badań laboratoryjnych. Nie należy pipetować ustami. Nie należy jeść, pić ani palić tytoniu w wyznaczonych obszarach roboczych. Podczas posługiwania się próbkami i odczynnikami testowymi należy nosić jednorazowe rękawice i fartuchy laboratoryjne. Po zakończeniu posługiwania się próbkami i odczynnikami testowymi należy dokładnie umyć ręce.
- 6 Przestrzeganie zasad wykonywania prac oraz higieny prac laboratoryjnych jest wymagane, aby chronić produkty reakcji PCR przed zanieczyszczeniem przez odczynniki, przyrządy lub próbki genomowego DNA. Zanieczyszczenie produktów reakcji PCR może powodować niedokładne i niepewne wyniki.
- 7 Aby zapobiegać zanieczyszczeniu produktów, należy upewnić się, że obszary procesu przed amplifikacją i po niej zostały wyposażone w odrębne przyrządy (np. pipety, końcówki do pipetowania, mieszadło wirowe i wirówkę).

Instrukcja użytkowania

Patrz ulotka dołączona do opakowania *aparatu NextSeq 550Dx* i odpowiednie instrukcje obsługi.

Charakterystyka działania

Patrz ulotka dołączona do opakowania *aparatu NextSeq 550Dx*.

Historia wersji

Dokument	Data	Opis zmiany
Nr dokumentu 1000000073349 wer. 03 POL	Listopad 2021 r.	Dodano oświadczenie „Ostrzeżenia i środki ostrożności” dotyczące zgłaszania poważnych incydentów. Dodano tabelę z historią wersji.

Patenty i znaki towarowe

Niniejszy dokument oraz jego treść stanowią własność firmy Illumina, Inc. oraz jej podmiotów zależnych („Illumina”) i są przeznaczone wyłącznie do użytku zgodnego z umową przez klienta firmy w związku z użytkowaniem produktów opisanych w niniejszym dokumencie, z wyłączeniem innych celów. Niniejszy dokument oraz jego treść nie będą wykorzystywane ani rozpowszechniane do innych celów i/lub publikowane w inny sposób, ujawniane ani kopiowane bez pisemnej zgody firmy Illumina. Firma Illumina na podstawie niniejszego dokumentu nie przenosi żadnych licencji podlegających przepisom w zakresie patentów, znaków towarowych czy praw autorskich ani prawa powszechnemu lub prawom pokrewnym osób trzecich.

W celu zapewnienia właściwego i bezpiecznego użytkowania produktów opisanych w niniejszym dokumencie podane instrukcje powinny być ściśle przestrzegane przez wykwalifikowany i właściwie przeszkolony personel. Przed rozpoczęciem użytkowania tych produktów należy zapoznać się z całą treścią niniejszego dokumentu.

NIEZAPOZNANIE SIĘ LUB NIEDOKŁADNE PRZESTRZEGANIE WSZYSTKICH INSTRUKCJI PODANYCH W NINIEJSZYM DOKUMENCIE MOŻE SPOWODOWAĆ USZKODZENIE PRODUKTÓW LUB OBRAŻENIA CIAŁA UŻYTKOWNIKÓW LUB INNYCH OSÓB ORAZ USZKODZENIE INNEGO MIENIA, A TAKŻE SPOWODUJE UNIEWAŻNIENIE WSZELKICH GWARANCJI DOTYCZĄCYCH PRODUKTÓW.

FIRMA ILLUMINA NIE PONOSI ODPOWIEDZIALNOŚCI ZA NIEWŁAŚCIWE UŻYTKOWANIE PRODUKTÓW (W TYM ICH CZĘŚCI I OPROGRAMOWANIA) OPISANYCH W NINIEJSZYM DOKUMENCIE.

© 2021 Illumina, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Wszystkie znaki towarowe są własnością firmy Illumina, Inc. lub ich odpowiednich właścicieli. Szczegółowe informacje na temat znaków towarowych można znaleźć na stronie www.illumina.com/company/legal.html.

Informacje kontaktowe



Illumina

5200 Illumina Way

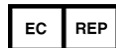
San Diego, California 92122, USA

+1 800 809 ILMN (4566)

+1 858 202 4566 (poza Ameryką Północną)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

The Netherlands

Sponsor australijski

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Australia

Etykiety produktu

Objaśnienia symboli zamieszczonych na opakowaniu i samym produkcie znajdują się w kluczu symboli użytych w danym zestawie, dostępnym na stronie support.illumina.com.