

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

İN VİTRO TANI AMAÇLI KULLANIM İÇİNDİR

Katalog No 20028871

## Kullanım Amacı

Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles), doğrulanmış testlerle birlikte kullanıldığında numune kitaplıklarının sekanslanması için tasarlanan bir dizi reaktif ve sarf malzemesidir. Kit, NextSeq 550Dx cihazı ve analiz yazılımı ile birlikte kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

## Prosedür İlkeleri

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles), NextSeq 550Dx cihazında sekanslama için reaktiflerden ve sarf malzemelerinden oluşan özel bir tek kullanımlık settir. NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) girdi için, numune dizinlerinin ve yakalama sekanslarının amplifiye hedeflere eklendiği, DNA'dan oluşturulan kitaplıkları kullanır. Numune kitaplıkları bir akış hücresinde yakalanır ve sentezle sekanslama (SBS) kimyasıyla cihaz üzerinde sekanslanır. SBS kimyası, büyüyen DNA zincirlerine kaynaştıkça floresan etiketlemeli tek nükleotid bazlarını saptamak için dönüştürülebilir terminatör yöntemini kullanır. Numune kitaplıklarının sayısı, ilk aşama kitaplık hazırlama yönteminin desteklediği çoğullamaya bağlıdır.

*NextSeq 550Dx Cihazı* kullanım talimatı belgesinde, NextSeq 550Dx cihazında sekanslama gerçekleştirmeye ilişkin talimatlar sunulmaktadır.

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) ile ilişkili performans özellikleri ve prosedür kısıtlamaları, Local Run Manager Germline ve Somatic Variant Module kullanılarak belirlenmiştir.

## Prosedür Kısıtlamaları

- 1 *In vitro* tanı amaçlı kullanım içindir.
- 2 İçerik uzunluğunun > 25 baz çifti (bp) olduğu insersiyon/delesyonlar (insersiyonlar, delesyonlar veya kombinasyonlar) içeren okumalar, test yazılımı tarafından hizalanmaz. Sonuç olarak > 25 bp uzunluğundaki insersiyon/delesyonlar test yazılımı tarafından saptanamaz.
- 3 Test yazılımı, uç içeriği olan amplikon okumalarını hizalamayabilir ve bu durum, bölgenin yabancı tip olarak raporlanmasına neden olabilir. Bu tür uç içerikler şunları içerir:
  - ▶ Üçten fazla insersiyon/delesyon içeren okumalar
  - ▶ Toplam amplikon hedef uzunluğunun > %4'ü kadar tek nükleotid varyantı (SNV) içeriği bulunan en az 30 bp uzunluğundaki okumalar (prob bölgeleri hariç)
  - ▶ Toplam amplikon uzunluğunun > %10'u kadar SNV içeriği bulunan < 30 bp uzunluğundaki okumalar (prob bölgeleri dahil)
- 4 Çoklu nükleotid varyantları (MNV) ve büyük insersiyon/delesyonlar dahil olmak üzere büyük varyantlar, çıktı VCF dosyasında ayrı ayrı daha küçük varyantlar olarak raporlanabilir.
- 5 Delesyon uzunluğu bölünmüş amplikonların arasındaki üst üste gelen kısımdan büyük veya bu kısma eşitse iki bölünmüş amplikon yayılırken delesyon varyantları filtrelenebilir veya kaçırılabilir.

- 6 İnsersiyon/delesyon doğrudan bir primerin bitişiğinde meydana gelirse ve üst üste gelen bir amplikon yoksa sistem insersiyon/delesyonları saptayamaz. Üst üste gelen amplikonların bulunduğu bölgelerde, üst üste gelme bölgesi saptanacak delesyon boyutundan küçük olduğunda test delesyonları saptayamaz. Örneğin, iki bitişik amplikon arasındaki üst üste gelme iki bazsa test bu bazların her ikisini içeren hiçbir delesyonu saptayamaz. Bu bazlardan birinde meydana gelen tek baz delesyonu ise saptanabilir.
- 7 Tüm hibridizasyon temelli kitaplık hazırlama iş akışlarında olduğu gibi oligonükleotid bağlama bölgelerindeki altta yatan polimorfizmler, mutasyonlar, insersiyonlar veya delesyonlar alellerin problemlenmesini ve dolayısıyla sekanslama sırasında yapılan aramaları etkileyebilir. Örneğin:
  - ▶ Primer bölgesinde varyant içeren fazdaki bir varyant, amplifiye edilmeyebilir ve böylece yalancı negatif sonuç elde edilebilir.
  - ▶ Primer bölgesindeki varyantlar referans alelin amplifikasyonunu engelleyebilir ve böylece hatalı homozigot varyant araması elde edilebilir.
  - ▶ Primer bölgesindeki insersiyon/delesyon varyantları, primere bitişik okumanın sonunda yalancı pozitif aramaya neden olabilir.
- 8 İnsersiyon/delesyonlar, bir okumanın sonunda meydana geliyorsa ve hizalama sırasında yazılım tarafından kesiliyorsa zincir biası nedeniyle filtrelenebilirler.
- 9 Küçük MNV'ler doğrulanmamıştır ve yalnızca Somatic Variant Module'de raporlanır.
- 10 Delesyonlar VCF'de, VCF biçimine göre önceki bazın koordinatında raporlanır. Dolayısıyla, bağımsız bir baz aramayı homozigot referans olarak raporlamadan önce bitişik varyantları değerlendirin.
- 11 Germ hattına özgü kısıtlamalar:
  - ▶ NextSeq 550Dx için Local Run Manager Germline Variant Module kullanan NextSeq 550Dx cihazı, germ hattı varyant aramaları için kalitatif sonuçlar sunmak üzere tasarlanmıştır (ör. homozigot, heterozigot, yabani tip).
  - ▶ Germline Variant Module ile birlikte kullanıldığında doğru varyant araması için gereken amplikon başına minimum kapsam 150x şeklindedir. Sonuç olarak 150 destekleyici DNA parçası gereklidir ve bu, 300 adet üst üste gelen çift sonlu okumaya eşdeğerdir. Hedeflenen toplam baz sayısı ve numune sayısı kapsamı etkiler. GC içeriği ve diğer genom içeriği, kapsamı etkileyebilir.
  - ▶ Kopya sayısı varyasyonu, bir varyantın homozigot veya heterozigot olarak tanımlanmasını etkileyebilir.
  - ▶ Belirli tekrarlı bağlamlardaki varyantlar VCF dosyalarında hariç tutulacak şekilde filtrelenir. RMxN tekrar filtresi, varyant sekansının tamamı veya bir kısmı varyant pozisyonuna bitişik referans genomda tekrarlı olarak mevcutsa varyantları filtrelemek için kullanılır. Germ hattı varyant aramasında, bir varyantın filtrelenmesi için referansta en az dokuz tekrar olması gerekir ve yalnızca en fazla 5 bp uzunluğundaki tekrarlar değerlendirilir (R5x9).
  - ▶ Tek loküste bir SNV ve insersiyon/delesyon olması yalnızca bir varyantın raporlanmasına yol açabilir.
- 12 Somatiğe özgü kısıtlamalar:
  - ▶ NextSeq 550Dx için Local Run Manager Somatic Variant Module kullanan NextSeq 550Dx cihazı, somatik varyant araması için kalitatif sonuçlar sunmak üzere tasarlanmıştır (ör. 0,05 saptama sınırı ile  $\geq 0,026$  varyant frekansı içeren somatik varyantın bulunması).
  - ▶ Somatic Variant Module ile birlikte kullanıldığında doğru varyant araması için gereken amplikon başına minimum kapsam, oligonükleotid havuzu başına 450x şeklindedir. Sonuç olarak oligonükleotid havuzu başına 450 destekleyici DNA parçası gereklidir ve bu, 900 adet üst üste gelen çift sonlu okumaya eşdeğerdir. Hedeflenen toplam baz sayısı ve numune sayısı kapsamı etkiler. GC içeriği ve diğer genom içeriği, kapsamı etkileyebilir.
  - ▶ Somatik varyant aramasında, varyantın filtrelenmesi için referansta en az altı tekrar olması gerekir ve yalnızca en fazla 3 bp uzunluğundaki tekrarlar değerlendirilir (R3x6).
  - ▶ Somatic Variant Module, germ hattı ile somatik varyantları ayırt edemez. Modül, geniş bir varyant frekansı yelpazesinde varyantları saptamak için tasarlanmıştır ancak varyant frekansı somatik varyantları germ hattı varyantlarından ayırmak için kullanılamaz.
  - ▶ Numunedeki normal doku, varyantların saptanmasını etkiler. Raporlanan saptama sınırı, hem tümör dokusundan hem de normal dokudan ekstrakte edilen toplam DNA'ya nispeten varyant frekansına bağlıdır.

## Reaktif Kiti Bileşenleri

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) ürününün her bir bileşeni ayrı kutuda sağlanır. Uygun şekilde performans elde etmek için bileşenleri derhal belirtilen sıcaklıkta depolayın. Aşağıda, reaktif kiti bileşenlerinin bir listesi verilmiştir.

Tablo 1 Reaktif Kiti Bileşenleri

Bileşen	Miktar	Dolum Hacmi	Açıklama	Depolama*
NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 cycles)	1 adet	Çeşitli	Kümeleme ve sekanslama reaktifleri	-25 °C ila -15 °C
NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 cycles)	1 adet	Çeşitli	Tamponlar ve yıkama solüsyonu	15 °C ila 30 °C
NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 cycles)	1 adet	Geçerli Değil	Tek kullanımlık, çift sonlu, cam akış hücresi	2 °C ila 8 °C
NextSeq 550Dx Accessory Box (300 cycles)	1 tüp	12 ml	Kitaplık seyreltme tamponu	-25 °C ila -15 °C

\*NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 cycles) ortam sıcaklığında gönderilir.

## Lot Numaraları

Reaktif kiti, reaktif kiti lot numarası olarak anılan tek bir lot numarasına sahiptir. Reaktif kitindeki her kutuda reaktif kiti lot numarası yazar. Kutuların içerisindeki reaktif kiti bileşenlerinde, reaktif kiti lot numarasından farklı, bileşene özgü lot numaraları yazar. Kit-lot eşleştirmesini muhafaza etmek için sekanslama sarf malzemelerini kullanıma hazır olana dek kutularında depolayın. Reaktif parça numaraları ve lot numaraları ile ilgili ayrıntılar için reaktif kitinin Analiz Sertifikasına bakın.

## Depolama ve Taşıma

- Oda sıcaklığı 15 °C ila 30 °C olarak tanımlanmıştır.
- Reaktif kiti bileşenleri, belirtilen depolama sıcaklıklarında depolandığında etiketteki son kullanım tarihine kadar stabildir.
- NextSeq 550Dx Accessory Box ve NextSeq 550Dx Reagent Cartridge belirtilen son kullanma tarihinden önce en fazla bir kez oda sıcaklığına çözündürme işlemi için stabildir. Reaktif kartuşu, oda sıcaklığında su banyosunda çözdürüldüğünde 6 saate kadar stabildir. Alternatif olarak reaktif kartuşu kullanımdan önceki en fazla 5 gün süreyle 2 °C ila 8 °C'de çözdürülebilir.
- Reaktiflerin fiziksel görünümündeki değişiklikler materyallerin bozulduğunu gösterebilir. Karıştırma işleminin ardından reaktif renginde belirgin değişiklikler veya mikrobiyal kontaminasyonla gözle görünür bulanıklık gibi fiziksel görünümde değişiklikler oluşursa reaktifleri kullanmayın.

## Gereken ve Ayrı Satılan Ekipman ve Materyaller

- NextSeq 550Dx Cihazı, Katalog No 20005715

## Uyarılar ve Tedbirler



### DİKKAT

Federal yasalar, bu cihazın kullanılmak ya da kullanılmasını sipariş etmek üzere yalnızca hekimler ya da faaliyet gösterdiği Eyalet kanunlarınca lisanslı olan diğer pratisyen hekimler tarafından veya bu hekimlerin siparişi üzerine satılması yönünde kısıtlama getirmektedir.

- 1 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) potansiyel olarak tehlikeli kimyasallar içerir. Solunması, yutulması, ciltle ve gözle teması halinde kişisel yaralanmaya neden olabilir. Maruziyet riskine karşı göz koruması, eldivenler ve laboratuvar önlüğü dahil olmak üzere koruyucu ekipman giyin. Kullanılmış reaktifleri kimyasal atık olarak ele alın ve geçerli bölgesel, ulusal ve yerel kanun ve düzenlemeler uyarınca atın.
- 2 Çevre, sağlık ve güvenlik bilgileri için, [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html) adresindeki güvenlik veri sayfasına (SDS) bakın.
- 3 Bu ürünle ilgili olarak ortaya çıkan tüm ciddi olayları derhal Illumina'ya ve kullanıcının ve hastanın bulunduğu üye devletlerin Yetkili Makamlarına raporlayın.
- 4 Belirtilen prosedürlerin uygulanmaması hatalı sonuçlara veya numune kalitesinde belirgin azalmaya neden olabilir.
- 5 Rutin laboratuvar tedbirlerini uygulayın. Ağzınızla pipetlemeyin. Belirlenmiş çalışma alanlarında yemek yemeyin, içecek tüketmeyin veya sigara içmeyin. Numuneleri ve test reaktiflerini kullanırken tek kullanımlık eldiven takın ve laboratuvar önlüğü giyin. Numuneleri ve test reaktiflerini elledikten sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- 6 PCR ürünlerinin reaktifleri, cihazları ve genomik DNA numunelerini kontamine etmesini önlemek için uygun laboratuvar uygulamalarının ve iyi düzeyde laboratuvar hijyeninin sağlanması gerekir. PCR kontaminasyonu hatalı ve güvenilmez sonuçlar elde edilmesine yol açabilir.
- 7 Kontaminasyonun önüne geçmek için pre-amplifikasyon ve post-amplifikasyon alanlarında özel ekipmanların bulunduğundan emin olun (ör. pipetler, pipet uçları, vorteks cihazı ve santrifüj).

## Kullanım Talimatları

NextSeq 550Dx Cihazı kullanım talimatına ve ilgili referans kılavuzlarına bakın.

## Performans Özellikleri

NextSeq 550Dx Cihazı kullanım talimatına bakın.

## Revizyon Geçmişi

Belge	Tarih	Değişiklik Açıklaması
Belge No 1000000073349 v03	Kasım 2021	Ciddi olayların raporlanması bölümüne Uyarılar ve Tedbirler ifadesi eklendi. Revizyon Geçmişi tablosu eklendi.

## Patentler ve Ticari Markalar

Bu belge ve içindekiler Illumina, Inc. ve bağlı şirketlerinin ("Illumina") mülkiyetinde olup yalnızca işbu belgede açıklanan ürünün/ürünlerin kullanımıyla bağlantılı olarak müşterisinin sözleşmeye ilişkin kullanımı içindir. Bu belge ve içindekiler Illumina'nın önceden yazılı izni olmaksızın başka hiçbir amaçla kullanılamaz veya dağıtılamaz ve/veya hiçbir şekilde iletilemez, ifşa edilemez ya da kopyalanamaz. Illumina bu belge ile patenti, ticari markası, telif hakkı veya genel hukuk hakları ya da üçüncü tarafların benzer hakları kapsamında hiçbir lisansı devretmez.

Bu belgede açıklanan ürünün/ürünlerin uygun ve güvenli bir şekilde kullanılması için nitelikli ve uygun eğitim almış çalışanlar bu belgedeki talimatları tam olarak ve açık bir şekilde uygulamalıdır. Söz konusu ürün/ürünler kullanılmadan önce bu belgedeki tüm bilgiler tam olarak okunmalı ve anlaşılmalıdır.

**BU BELGEDE YER ALAN TÜM TALİMATLARIN TAMAMEN OKUNMAMASI VE AÇIK BİR ŞEKİLDE UYGULANMAMASI, ÜRÜNÜN/ÜRÜNLERİN HASAR GÖRMESİNE, KULLANICI VEYA BAŞKALARI DAHİL OLMAK ÜZERE KİŞİLERİN YARALANMASINA VE DİĞER MALLARIN ZARAR GÖRMESİNE NEDEN OLABİLİR VE ÜRÜN/ÜRÜNLER İÇİN GEÇERLİ OLAN HER TÜRLÜ GARANTİYİ GEÇERSİZ KILACAKTIR.**

**ILLUMINA BU BELGEDE AÇIKLANAN ÜRÜNÜN/ÜRÜNLERİN (ÜRÜNÜN PARÇALARI VEYA YAZILIM DAHİL) YANLIŞ KULLANIMINDAN DOĞAN DURUMLARDAN SORUMLU TUTULAMAZ.**

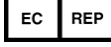
© 2021 Illumina, Inc. Tüm hakları saklıdır.

Tüm ticari markalar Illumina, Inc. veya ilgili sahiplerinin malıdır. Özel ticari marka bilgileri için bkz. [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## İletişim Bilgileri



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 ABD  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (Kuzey Amerika dışından)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



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

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

## Ürün Etiketi

Ürün ambalajı ve etiketinde görülebilecek sembollere dair eksiksiz referans için [support.illumina.com](https://support.illumina.com) adresinden kitinize yönelik sembol anahtarına bakın.