

Súprava reagensíí NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cyklov)

NA DIAGNOSTICKÉ ÚČELY IN VITRO

Katalógové č. 20019554

Určené použitie

Súprava reagensíí Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cyklov) je súprava reagensíí a spotrebného materiálu určených na sekvenovanie knižníc vzoriek pri použití s validovanými analýzami. Táto súprava je určená na použitie s prístrojom NextSeq 550Dx a analytickým softvérom.

Princípy postupu

Súprava reagensíí NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cyklov) je jednorazová súprava reagensíí a spotrebného materiálu na sekvenovanie na prístroji NextSeq 550Dx. Súprava reagensíí NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cyklov) používa ako vstup knižnicu vytvorenú z DNA, kde sa indexy vzoriek a zachytené sekvencie pripájajú k amplifikovaným cieľom. Knižnice vzoriek sa zachytávajú na prietokovej komôrke a sekvenujú sa v prístroji pomocou chémie sekvenovania syntézou (SBS). Chémia SBS používa metódu reverzibilného terminátora s cieľom detegovať fluorescenčne označené samostatné nukleotidové bázy vtedy, keď sa začleňujú do rastúcich DNA vlákien. Počet knižníc vzoriek závisí od multiplexovania, ktoré podporuje metóda „upstream“ prípravy knižnice.

Pokyny na sekvenovanie na prístroji *NextSeq 550Dx* sú uvedené v príbalovom letáku k prístroju NextSeq 550Dx.

Výkonové charakteristiky a obmedzenia postupu pre súpravu reagensíí NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cyklov) sa stanovili za použitia modulov Germline Variant a Somatic Variant softvéru Local Run Manager (Správca lokálnych chodov).

Obmedzenia postupu

- 1 Na diagnostické použitie *in vitro*.
- 2 Softvér analýzy nezarovnáva čítania s indelmi (inzeriami, deléciami alebo ich kombináciami), ak je dĺžka obsahu > 25 párov báz (bp). V dôsledku toho nedokáže softvér analýzy detegovať indely s dĺžkou > 25 bp.
- 3 Softvér analýzy nemusí zarovnávať čítania amplikónov s extrémnym obsahom, v dôsledku čoho sa oblasť vykáže ako divoký typ (tzv. wild-type). Takýto extrémny obsah zahŕňa:
 - ▶ Čítania obsahujúce viac ako tri indely.
 - ▶ Čítania s dĺžkou minimálne 30 bp s obsahom jednonukleotidového variantu (SNV) > 4 % celkovej cieľovej dĺžky amplikónu (okrem oblastí prób).
 - ▶ Čítania s dĺžkou < 30 bp s obsahom SNV > 10 % celkovej dĺžky amplikónu (vrátane oblastí prób).
- 4 Veľké varianty vrátane viacnukleotidových variantov (MNV) a veľkých indelov sa môžu vo výstupnom súbore VCF vykazovať ako samostatné menšie varianty.
- 5 Varianty delécií sa môžu pri premostení dvoch prekrývajúcich sa amplikónov filtrovať alebo vynechať, ak je dĺžka delécie väčšia alebo rovná prekrytiu medzi prekrývajúcimi sa amplikónmi.
- 6 Ak sa indely nachádzajú tesne vedľa priméru a chýba prekrývajúci sa amplikón, systém nedokáže tieto indely detegovať. Pri oblastiach s prekrývajúcimi sa amplikónmi analýza nedokáže detegovať delécie v prípade,

- že je oblasť prekrytia menšia ako veľkosť delécie, ktorá sa má detegovať. Napríklad, ak je oblasť prekrytia medzi dvoma susediacimi amplikónmi tvorená dvoma bázami, analýza nedokáže detegovať žiadne delécie zahŕňajúce obe tieto bázy. Deléciu jednej bázy ktorejkoľvek z týchto báz možno detegovať.
- 7 Rovnako ako pri inom pracovnom postupe prípravy knižnice na báze hybridizácie môžu základné polymorfizmy, mutácie, inzercie alebo delécie vo väzbových oblastiach oligonukleotidov ovplyvňovať alely, na ktoré sa zameriava próba, a následne stanovenia vykonané v priebehu sekvenovania. Príklad:
 - ▶ Nemusí sa amplifikovať variant vo fáze s variantom v oblasti priméru, výsledkom čoho je falošne negatívny výsledok.
 - ▶ Varianty v oblasti priméru by mohli zabrániť amplifikácii referenčnej alely, výsledkom čoho by bolo nesprávne stanovenie homozygotného variantu.
 - ▶ Varianty indelov v oblasti priméru môžu spôsobovať falošne pozitívne stanovenie na konci čítania susediaceho s primérom.
 - 8 Ak sa indely nachádzajú v blízkosti konca jedného čítania a sú počas zarovnania tzv. soft-clipped, tieto indely sa môžu filtrovať v dôsledku odchýlky vlákna.
 - 9 Malé MNV neboli validované a vykazujú sa len v module Somatic Variant.
 - 10 Delécie sa vo VCF vykážu na súradnici predchádzajúcej bázy podľa formátu VCF. Preto v prípade susediacich variantov treba pred nahlásením zvážiť, či je jednotlivé stanovenie báz homozygotná referencia.
 - 11 Obmedzenia špecifické pre germinálne varianty:
 - ▶ Prístroj NextSeq 550Dx používajúci modul Germline Variant softvéru Local Run Manager (Správca lokálnych chodov) prístroja NextSeq 550Dx je navrhnutý tak, aby poskytoval kvalitatívne výsledky na stanovenie germinálnych variantov (napr. homozygotných, heterozygotných, divokého typu).
 - ▶ Keď sa používa modul Germline Variant, minimálne pokrytie na amplikón, ktoré sa vyžaduje na presné stanovenie variantov, je 150x. V dôsledku toho sa vyžaduje 150 podporných fragmentov DNA, čo zodpovedá 300 prekrývajúcim sa čítaniam z oboch koncov. Na pokrytie má vplyv počet vzoriek a celkový počet cieľových báz. Na pokrytie môže mať vplyv obsah GC a iný genómový obsah.
 - ▶ Variácia v počte kópií môže ovplyvniť to, či sa variant identifikuje ako homozygotný alebo heterozygotný.
 - ▶ Varianty v určitom repetitívnom kontexte sú v súboroch VCF odfiltrované. Ak sa celá sekvencia variantu alebo jej časť nachádza opakovane v referenčnom genóme vedľa pozície variantu, na filtrovanie variantov sa použije filter opakovania RMxN. V prípade stanovenia germinálnych variantov sa na filtrovanie variantu vyžaduje minimálne deväť opakovaní v referencii a do úvahy sa berú len opakovania s dĺžkou do 5 bp (R5x9).
 - ▶ Ak sa v jednom lokuse nachádza indel a SNV, môže to viesť k tomu, že sa vykáže len jeden variant.
 - 12 Obmedzenia špecifické pre somatické varianty:
 - ▶ Prístroj NextSeq 550Dx používajúci modul Somatic Variant softvéru Local Run Manager (Správca lokálnych chodov) prístroja NextSeq 550Dx je navrhnutý tak, aby poskytoval kvalitatívne výsledky na stanovenie somatických variantov (napr. prítomnosť somatického variantu s frekvenciou variantu $\geq 0,026$ s limitom detekcie 0,05).
 - ▶ Keď sa používa modul Somatic Variant, minimálne pokrytie na amplikón, ktoré sa vyžaduje na presné stanovenie variantov, je 450x na pool oligonukleotidov. V dôsledku toho sa vyžaduje 450 podporných fragmentov DNA na pool oligonukleotidov, čo zodpovedá 900 prekrývajúcim sa čítaniam z oboch koncov. Na pokrytie má vplyv počet vzoriek a celkový počet cieľových báz. Na pokrytie môže mať vplyv obsah GC a iný genómový obsah.
 - ▶ V prípade stanovenia somatických variantov sa na filtrovanie variantu vyžaduje minimálne šesť opakovaní v referencii a do úvahy sa berú len opakovania s dĺžkou do 3 bp (R3x6).
 - ▶ Modul Somatic Variant nedokáže rozlišovať medzi germinálnymi a somatickými variantmi. Modul je navrhnutý tak, aby zisťoval varianty naprieč rozsahom frekvencií variantov, avšak frekvencia variantov sa nemôže použiť na odlíšenie somatických variantov od germinálnych variantov.
 - ▶ Normálne tkanivo vo vzorke ovplyvňuje detekciu variantov. Vykazovaný limit detekcie vychádza z frekvencie variantov vzhľadom na celkovú DNA extrahovanú z nádorového aj normálneho tkaniva.

Komponenty súpravy reagencií

Každý komponent súpravy reagencií NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cyklov) sa dodáva v samostatnej škatuli. Komponenty rýchlo uskladnite v prostredí s predpísanou teplotou, aby ste zabezpečili ich správnu funkčnosť. Nižšie je uvedený zoznam komponentov súpravy reagencií.

Tabuľka 1 Komponenty súpravy reagencií

Komponent	Množstvo	Plniaci objem	Popis	Skladovanie
Kazeta s reagenciami NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 cyklov)	1 každá	Rôzny	Reagencie na klastrovanie a sekvenovanie	-25 °C až -15 °C
Kazeta s pufróm NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 cyklov)	1 každá	Rôzny	Pufre a preplachovací roztok	15 °C až 30 °C
Kazeta s prietokovými komôrkami NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2 (300 cyklov)	1 každá	Nie je k dispozícii	Sklenená prietoková komôrka na jedno použitie s čítaním z oboch koncov	2 °C až 8 °C
Škatuľa s príslušenstvom NextSeq 550Dx (300 cyklov)	1 skúmavka	12 ml	Pufer na riedenie knižníc	-25 °C až -15 °C

Číslo šarží

Súprava reagencií má jedno číslo šarže, ktoré sa považuje za číslo šarže súpravy reagencií. Na každej škatuli v súprave reagencií je vytlačené číslo šarže súpravy reagencií. Na komponentoch súpravy reagencií, ktoré sa nachádzajú vnútri škatúľ, sú vytlačené čísla šarží, ktoré sú špecifické pre tieto komponenty a líšia sa od čísla šarže súpravy reagencií. Sekvenovací spotrebný materiál uchovávajte v originálnych škatuliach až dovtedy, kým ho nebudete potrebovať. Zachová sa tak spojenie so šaržou súpravy. Podrobné informácie o číslach dielov reagencií a číslach šarží nájdete v certifikáte analýzy súpravy reagencií.

Skladovanie a manipulácia

- 1 Izbová teplota sa definuje ako teplota od 15 °C do 30 °C.
- 2 Komponenty súpravy reagencií sú stabilné až do dátumu expirácie na štítku, pokiaľ sa skladujú pri predpísaných teplotách.
- 3 Škatuľa s príslušenstvom NextSeq 550Dx a kazeta s reagenciami NextSeq 550Dx sú stabilné počas maximálne jedného rozmrazenia na izbovú teplotu ešte pred uplynutím stanoveného dátumu expirácie. Kazeta s reagenciami je po rozmrazení na izbovú teplotu vo vodnom kúpeli stabilná až 6 hodín. Prípadne sa môže kazeta s reagenciami pred použitím rozmraziť a 5 dní uchovávať pri teplote od 2 °C do 8 °C.
- 4 Zmeny fyzického vzhľadu reagencií môžu naznačovať znehodnotenie materiálu. Ak sa fyzický vzhľad zmení po premiešaní (napr. výrazné zmeny v sfarbení reagencie alebo zjavný zákal v dôsledku mikrobiálnej kontaminácie), reagencie nepoužívajte.

Potrebné vybavenie a materiál, ktoré sa predávajú samostatne

- Prístroj NextSeq 550Dx, katalógové č. 20005715

Varovania a bezpečnostné opatrenia



UPOZORNENIE

Federálne zákony obmedzujú predaj, objednanie, používanie alebo objednanie používania tohto zariadenia na lekára alebo iného odborníka s licenciou podľa práva štátu, v ktorom vykonáva prax.

- 1 Súprava reagensíí NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 cyklov) obsahuje potenciálne nebezpečné chemikálie. K zraneniam osôb môže dôjsť v dôsledku vdýchnutia, požitia, kontaktu s pokožkou a kontaktu s očami. Noste ochranné prostriedky vrátane ochrany očí, rukavíc a laboratórneho pláštá, ktoré sú vhodné pre toto nebezpečenstvo expozície. S použitými reagensiami manipulujte ako s chemickým odpadom a likvidujte ich v súlade s platnými regionálnymi, vnútroštátnymi a miestnymi zákonmi a predpismi.
- 2 Informácie o ochrane životného prostredia, zdravia a bezpečnosti nájdete v karte bezpečnostných údajov na stránke support.illumina.com/sds.html.
- 3 Výsledkom nedodriavania stanovených postupov môžu byť chybné výsledky alebo významné zníženie kvality vzorky.
- 4 Prijmite bežné laboratórne bezpečnostné opatrenia. Nepipetujte ústami. V určených pracovných priestoroch nejedzte, nepite ani nefajčite. Počas manipulácie so vzorkami a reagensiami analýzy noste jednorazové rukavice a laboratórny plášť. Po ukončení manipulácie so vzorkami a reagensiami analýzy si dôkladne umyte ruky.
- 5 Vyžaduje sa dodriavanie správnych laboratórnych postupov a správnej laboratórnej hygieny, aby sa tak zabránilo kontaminácii reagensíí, nástrojov a vzoriek genómovej DNA produktmi PCR. Kontaminácia PCR môže viesť k nesprávnym alebo nespoľahlivým výsledkom.
- 6 Aby ste zabránili kontaminácii, zabezpečte, aby sa v oblastiach pred amplifikáciou a po amplifikácii nachádzalo vlastné vybavenie (napr. pipety, pipetové špičky, vortexer a centrifúga).

Návod na použitie

Pozrite si príbalový leták k prístroju *NextSeq 550Dx* a platné referenčné príručky.

Výkonové charakteristiky

Pozrite si príbalový leták k prístroju *NextSeq 550Dx*.

Patenty a ochranné známky

Tento dokument a jeho obsah sú vlastníctvom spoločnosti Illumina, Inc. a jej pridružených spoločností (ďalej len „Illumina“) a sú určené výlučne na zmluvné použitie u zákazníka v súvislosti s používaním produktu (produktov) opísaného (opísaných) v tomto dokumente a na žiadny iný účel. Tento dokument a jeho obsah sa nesmú používať ani šíriť na žiadny iný účel a/alebo inak poskytovať, zverejňovať alebo reprodukovať akýmkoľvek spôsobom bez predchádzajúceho písomného súhlasu spoločnosti Illumina. Spoločnosť Illumina týmto dokumentom neposkytuje žiadnu licenciu na základe patentu, ochrannej známky, autorských práv alebo práv podľa zvykového práva, či podobných práv tretích strán.

Pokyny v tomto dokumente musia byť prísne a výslovne dodriavované kvalifikovaným a riadne vyškoleným personálom, aby sa zabezpečilo správne a bezpečné používanie tu opísaného produktu (produktov). Pred použitím takéhoto produktu (produktov) je nutné prečítať si celý obsah tohto dokumentu s porozumením.

NEPREČÍTANIE VŠETKÝCH POKYNOV TU OBSIAHNUTÝCH A ICH VÝSLOVNÉ NEDODRŽANIE MÔŽE MAŤ ZA NÁSLEDOK POŠKODENIE PRODUKTU (PRODUKTOV), ZRANENIE OSOBY VRÁTANE POUŽÍVATELOV ALEBO INÝCH OSÔB, POŠKODENIE ĎALŠIEHO MAJETKU A ZRUŠENIE PLATNOSTI ZÁRUKY VZŤAHUJÚCEJ SA NA PRODUKT (PRODUKTY).

SPOLOČNOSŤ ILLUMINA NEPREBERÁ ŽIADNU ZODPOVEDNOSŤ VYPLYVAJÚCU Z NEBEZPEČNÉHO POUŽITIA TU OPÍSANÉHO PRODUKTU (PRODUKTOV) (VRÁTANE SÚČASTÍ ALEBO SOFTVÉRU).

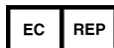
© 2020 Illumina, Inc. Všetky práva vyhradené.

Všetky ochranné známky sú vlastníctvom spoločnosti Illumina, Inc. alebo príslušných vlastníkov. Informácie o konkrétnych ochranných známkach nájdete na stránke www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktné údaje



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (okrem Severnej Ameriky)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE Eindhoven
Holandsko

Austrálsky zadávateľ

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

Označenie produktu

Úplné informácie o symboloch, ktoré sa môžu nachádzať na obale a označení produktu, nájdete vo vysvetlivkách symbolov pre vašu súpravu na stránke support.illumina.com na karte *Documentation and Literature* (Dokumentácia a literatúra).