

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 korištenja

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) komplet je reagensa i potrošnog materijala za jednokratnu upotrebu namijenjen sekvenciranju na instrumentu NextSeq 550Dx. NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) kao ulaz koristi biblioteke generirane iz DNK kod kojih se amplificiranim ciljnim vrijednostima dodaju indeksi uzorka i prikupljene sekvence. Biblioteke s uzorcima snimaju se u protočnoj jedinici i sekvenciraju na instrumentu tehnologijom sekvenciranja sintezom (eng. sequencing by synthesis, 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 biblioteka.

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.

Ograničenja postupka

- 1 Za *in vitro* dijagnostiku.
- 2 Čitanja s „indelima“ (inercijama/delecijama, tj. umetanjima, brisanjima ili kombiniranjima) kod kojih je duljina sadržaja > 25 parova baza (base pairs, bp) nisu kalibrirana u softveru za analizu. Sukladno tome, softver za analizu ne može prepoznati indele duljine > 25 bp.
- 3 Moguće je da čitanja amplikona ekstremnog sadržaja nisu kalibrirana u softveru za analizu, što znači da će ta područja biti prepoznata kao područja divljeg tipa. Među takve ekstremne sadržaje pripada 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 amplikona (bez regija sonde)
 - ▶ očitavanja duljine < 30 bp sa sadržajem SNV-a > 10 % od ukupne ciljne duljine amplikona (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 amplikona s dvije površine ako je duljina brisanja veća od preklapanja između amplikona 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 području primera možda neće biti amplificirana, što će uzrokovati lažno negativan rezultat.
 - ▶ Varijante u području primera mogu spriječiti amplifikaciju referentne alele, što će uzrokovati netočno prepoznavanje homozigotne varijante.
 - ▶ Varijante indela u području primera mogu na kraju čitanja neposredno uz primer uzrokovati lažno pozitivno prepoznavanje.
- 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 Valjanost očitavanja kod malih MNV-ova nije provjerena i oni se prepoznaju samo u modulu somatske varijante.
- 10 Brisanja se prepoznaju u VCF-u na koordinatama prethodne baze u skladu s formatom VCF; stoga prije prepoznavanja pojedinačne baze kao homozigotne reference provjerite susjedne varijante.
- 11 Ograničenja specifična za zametne stanice:
 - ▶ Instrument NextSeq 550Dx pomoću modula varijanti zametnih stanica softvera Local Run Manager za NextSeq 550Dx dizajniran je da pruži kvalitativne rezultate za određivanje varijanti zametnih stanica (npr. homozigotna, heterozigotna, divlja populacija).
 - ▶ Kada se koristi s modulom varijanti zametne stanice, minimalna pokrivenost po aplikaciji potrebna za precizno određivanje varijanti 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 genomske 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 ponavljanja RMxN upotrebljava se za filtriranje varijanti ako se cijela sekvenca varijante ili njen dio ponavljaju u referentnom genomu uz položaj 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 broju 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 genomske 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 namijenjen prepoznavanju varijanti u rasponu učestalosti varijanti, ali se učestalost varijanti ne može upotrebljavati za razlikovanje somatskih varijanti od varijanti linija spolnih stanica.
 - ▶ Normalno tkivo uzorka utječe na detekciju varijanti. Otkriveno ograničenje prepoznavanja temelji se na učestalosti varijante u odnosu na ukupnu DNA izdvojenju iz tumora 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.

Tbl. 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 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

*Kompleti NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 (300 ciklusa) isporučuju 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 temperatura definirana je kao temperatura od 15 °C do 30 °C.
- 2 Komponente kompleta reagensa otpremaju se s kontrolom temperature i stabilne su kad se skladište na navedenim temperaturama skladištenja do datuma isteka valjanosti na naljepnici.
- 3 Proizvodi NextSeq 550Dx Accessory Box i NextSeq 550Dx Reagent Cartridge stabilni su do maksimalno jednog odmrzavanja na sobnu temperaturu 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 nakon miješanja primijete promjene u fizičkom izgledu, poput očitih promjena boje reagensa ili vidljive zamućenosti uz kontaminaciju mikrobima, reagense 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.

- 1 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) sadrži potencijalno opasne kemikalije. Uslijed udisanja, gutanja, dodira s kožom i dodira s očima može doći do 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 odgovarajućim regionalnim, nacionalnim i mjesnim zakonima i propisima.
- 2 Informacije o zaštiti okoliša, zdravlja i sigurnosti potražite u sigurnosno-tehničkom listu za komplet na adresi support.illumina.com/sds.html.
- 3 Nepridržavanje navedenih procedura može rezultirati netočnim rezultatima ili znatnim smanjenjem kvalitete uzoraka.
- 4 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.
- 5 Odgovarajuće laboratorijske prakse i dobra higijena u laboratoriju obavezne su radi sprječavanja kontaminacije reagensa, instrumenata i genomskih DNK uzoraka PCR proizvodima. Kontaminacija PCR proizvodima može uzrokovati netočne i nepouzdanе rezultate.
- 6 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*.

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).

© 2020. Illumina, Inc. Sva prava pridržana.

Svi su žigovi vlasništvo tvrtke Illumina, Inc. ili svojih vlasnika. Konkretnе 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.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE 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 na web-mjestu support.illumina.com na kartici *Dokumentacija i literatura* vašeg kompleta.