

NextSeq™ 550Dx augstas izvades reaģentu komplekts v2.5 (300 cikli)

TIKAI IN VITRO DIAGNOSTIKAS NOLŪKIEM

Kataloga Nr. 20028871

Paredzētais lietojums

illumina NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu komplekts v2.5 (300 cikli) ir reaģentu un palīgmateriālu komplekts, kas paredzēts paraugu bibliotēku sekvencēšanai, ja to izmanto kopā ar apstiprinātām analizēm. Komplekts ir paredzēts lietošanai ar NextSeq 550Dx instrumentu un analītisko programmatūru.

Procedūras principi

NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu komplekts v2.5 (300 cikli) ir vienreiz lietojams reaģentu un palīgmateriālu komplekts sekvencēšanai ar NextSeq 550Dx instrumentu. Ievadei NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu komplekts v2.5 (300 cikli) izmanto bibliotēkas, kas ģenerētas no DNS, kur amplificētiem mērķiem tiek pievienoti paraugu rādītāji un uztvertās sekvenču. Paraugu bibliotēkas tiek uztvertas plūsmas elementā un sekvencētas instrumentā, izmantojot sekvencēšanu ar sintēzes (SBS) ķīmiju. SBS ķīmijā tiek izmantota atgriezeniska terminatora metode, lai noteiktu fluorescējoši iezīmētas atsevišķas nukleotīdu bāzes, jo tās ir iekļautas augošās DNS virknēs. Paraugu bibliotēku skaits ir atkarīgs no multipleksēšanas, ko atbalsta augšupstraumes bibliotēkas sagatavošanas metode.

NextSeq 550Dx instrumenta iepakojuma ieliktņī ir sniegtas sekvencēšanas veikšanas instrukcijas ar NextSeq 550Dx instrumentu.

NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu komplekta v2.5 (300 cikli) veikspējas raksturlielumi un procedūras ierobežojumi tika izveidoti, izmantojot Local Run Manager dzimumšūnu un somatisko variantu moduļus.

Procedūras ierobežojumi

- 1 Tikai *in vitro* diagnostikas nolūkiem.
- 2 Analīzes programmatūra nesaskaņo lasījumus ar indeliem (insercijām, delēcijām vai kombinācijām), ja satura garums pārsniedz 25 bāzes pārus (bp). Rezultātā indeli, kuru garums pārsniedz 25 bp, ar analīzes programmatūru nav konstatējami.
- 3 Amplikonu lasījumus ar galēju saturu analīzes programmatūra var nesalāgot, tādējādi reģions var tikt ziņots kā savvaļas tipa. Šādā galējā saturā ietilpst:
 - ▶ Lasījumi, kas satur vairāk nekā trīs indelus.
 - ▶ Lasījumi, kuru garums ir vismaz 30 bp, ar atsevišķu nukleotīdu variantu (SNV) saturu > 4% no kopējā amplikona mērķa garuma (izņemot zondes reģionus).
 - ▶ Lasījumi, kuru garums ir < 30 bp, ar SNV saturu > 10% no kopējā amplikona garuma (ieskaitot zondes reģionus).
- 4 Lielu variantu, ieskaitot multinukleotīdu variantus (MNV) un lielus indelus, izvades VCF failā var tikt ziņoti kā atsevišķi mazāki varianti.
- 5 Gadījumos, kad ir aptverti divi pārklājušies amplikoni, delēciju varianti var tikt izfiltrēti vai izlaisti, ja delēcijas garums ir lielāks par vai vienāds ar pārklājumu starp pārklātajiem amplikoniem.

- 6 Sistēma nevar konstatēt indelus, ja tie notiek tieši blakus praimerim un ja nav pārklājoša amplikona. Reģioniem, kuros amplikoni pārklājas, analīze nevar konstatēt delēcijas, ja pārklāšanās reģions ir mazāks par konstatējamās delēcijas lielumu. Piemēram, ja pārklāšanās reģions starp diviem blakus esošiem amplikoniem ir divas bāzes, analīze nevar konstatēt delēcijas, kas ietver šīs abas bāzes. Ir iespējams konstatēt vienu bāzes delēciju jebkurā no šīm bāzēm.
- 7 Tāpat kā jebkurai uz hibridizāciju balstītai bibliotēku sagatavošanas darbpilūsmi zondējamās alēles un attiecīgi arī sekvencēšanas laikā veikto noteikšanu var ietekmēt pamatā esoši polimorfismi, mutācijas, insercijas vai delēcijas oligonukleotīdus saistošajos reģionos. Tālāk sniegti piemēri.
 - ▶ Variants fāzē ar variantu praimera reģionā var netikt amplificēts, tādējādi tiek iegūts kļūdaini negatīvs rezultāts.
 - ▶ Varianti praimera reģionā var traucēt atsaucē alēles amplifikāciju, tādējādi izraisot nepareizu homozigotiska varianta noteikšanu.
 - ▶ Indelu varianti praimera reģionā var izraisīt kļūdaini pozitīvu noteikšanu lasījuma beigās blakus praimerim.
- 8 Indelus var filtrēt virkņu novirzes dēļ, ja tie rodas tuvu viena lasījuma beigām un ja tiem veikta daļēja salāgošana, nedzēšot nesalāgoto daļu.
- 9 Nelieli MNV nav apstiprināti un ir ziņoti tikai somatisko variantu modulī.
- 10 Delēcijas tiek ziņojas VCF failā pie iepriekšējās bāzes koordinātas atkarībā no VDF formāta; tāpēc izvērtējiet blakus esošos variantus, pirms ziņojat, ka atsevišķa bāze ir noteikta kā homozigotiska atsaucē.
- 11 Dzimumsūnas līnijas ierobežojumi:
 - ▶ NextSeq 550Dx instruments, izmantojot Local Run Manager dzimumšūnas līnijas variantu moduli NextSeq 550Dx, ir paredzēts, lai nodrošinātu kvalitatīvus dzimumšūnas līnijas variantu (piemēram, homozigotisku, heterozigotiskus, savvaļas tipa) noteikšanas rezultātus.
 - ▶ Lietojot kopā ar dzimumšūnas līnijas variantu moduli, minimālais segums uz amplikonu, kas nepieciešams precīzai variantu noteikšanai, ir 150x. Rezultātā ir nepieciešami 150 atbalstoši DNS fragmenti, kas ir ekvivalenti 300 pārklājošiem sapārotu galu lasījumiem. Paraugu skaits un kopējais mērķa bāzu skaits ietekmē segumu. GC saturs un cits genomiskais saturs var ietekmēt segumu.
 - ▶ Kopiju skaita variācijas var ietekmēt to, vai variants tiek identificēts kā homozigotisks vai heterozigotisks.
 - ▶ Varianti noteiktā atkārtotā kontekstā tiek izfiltrēti no VCF failiem. Tiek izmantots RMxN atkārtojumu filtrs, lai filtrētu variantus, ja visa varianta vai tā daļas sekvenca atkārtoti parādās atsaucē genomā blakus varianta pozīcijai. Dzimumsūnas līnijas variantu noteikšanā ir nepieciešami vismaz deviņi atkārtojumi atsaucē, lai variants tiktu izfiltrēts, un tiek ņemti vērā tikai tie atkārtojumi, kuru garums nepārsniedz 5 bp (R5x9).
 - ▶ Indels un SNV vienā lokusā var tikt ziņots kā viens variants.
- 12 Somatiskie ierobežojumi:
 - ▶ NextSeq 550Dx instruments, izmantojot Local Run Manager somatisko variantu moduli NextSeq 550Dx, ir paredzēts, lai nodrošinātu kvalitatīvus somatisko variantu (piemēram, tāda somatiskā varianta klātbūtne, kura varianta biežums ir $\geq 0,026$ ar noteikšanas robežu 0,05) noteikšanas rezultātus.
 - ▶ Lietojot kopā ar Somatisko variantu moduli, minimālais segums uz amplikonu, kas nepieciešams precīzai variantu noteikšanai, ir 450x uz oligonukleotīdu kopu. Rezultātā ir nepieciešami 450 atbalstoši DNS fragmenti uz oligonukleotīdu kopu, kas ir ekvivalenti 900 pārklājošiem sapārotu galu lasījumiem. Paraugu skaits un kopējais mērķa bāzu skaits ietekmē segumu. GC saturs un cits genomiskais saturs var ietekmēt segumu.
 - ▶ Somatisko variantu noteikšanā ir nepieciešami vismaz seši atkārtojumi atsaucē, lai variants tiktu izfiltrēts, un tiek ņemti vērā tikai tie atkārtojumi, kuru garums nepārsniedz 3 bp (R3x6).
 - ▶ Somatisko variantu modulis nevar noteikt atšķirību starp dzimumšūnas līnijas un somatiskajiem variantiem. Modulis ir paredzēts, lai konstatētu variantus dažāda varianta biežuma diapazonā, bet variantu biežumu nevar izmantot, lai noteiktu atšķirību starp dzimumšūnas līnijas un somatiskajiem variantiem.
 - ▶ Normāli audi paraugā ietekmē variantu konstatēšanu. Ziņotā noteikšanas robeža balstās uz variantu biežumu attiecībā pret kopējo DNS, kas ekstrahēta gan no audzēja, gan no normāliem audiem.

Reaģentu komplekta sastāvdaļas

Katra NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu komplekta v2.5 (300 cikli) sastāvdaļa tiek piegādāta atsevišķā kastē. Nekavējoties noglabāriet sastāvdaļas norādītajā temperatūrā, lai nodrošinātu pareizu veikspēju. Tālāk norādīts reaģentu komplekta sastāvdaļu saraksts.

1. tabula Reaģentu komplekta sastāvdaļas

Sastāvdaļa	Daudzums	Uzpildes tilpums	Apraksts	Uzglabāšana*
NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu kasetne v2 (300 cikli)	1 katram	Dažādi	Reaģenti klasteru veidošanai un sekvencēšanai	No -25 °C līdz -15 °C
NextSeq 550Dx bufera kasetne v2 (300 cikli)	1 katram	Dažādi	Buferi un mazgāšanas šķīdums	No 15 °C līdz 30 °C
NextSeq 550Dx augstas izvades plūsmas šūnu kasetne v2.5 (300 cikli)	1 katram	Nav	Vienreizlietojams sapārotu galu stikla plūsmas elements	No 2 °C līdz 8 °C
NextSeq 550Dx piederumu kaste (300 cikli)	1 mēģene	12 ml	Bibliotēkas atšķaidīšanas buferšķīdums	No -25 °C līdz -15 °C

*NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu v2.5 (300 cikli) komplekti tiek piegādāti istabas temperatūrā.

Partijas numuri

Reaģentu komplektam ir viens partijas numurs, kas tiek dēvēts par reaģentu komplekta partijas numuru. Katrai kastei reaģentu komplektā ir uzdrukāts reaģentu komplekta partijas numurs. Reaģentu komplekta sastāvdaļām, kas atrodas kastēs, ir uzdrukāti sastāvdaļām specifiski partiju numuri, kas atšķiras no reaģentu komplekta partijas numura. Glabājiet sekvencēšanas palīgmateriālus to kastēs, līdz tie ir gatavi lietošanai, lai saglabātu komplekta saistību ar partiju. Sīkāku informāciju par reaģentu daļu numuriem un partijas numuriem skatiet Reaģentu komplekta analīzes sertifikātā.

Uzglabāšana un izmantošana

- 1 Istabas temperatūra tiek definēta no 15 °C līdz 30 °C.
- 2 Reaģentu komplekta sastāvdaļas tiek piegādātas, kontrolējot temperatūru, un ir stabilas, ja tās uzglabā norādītajā uzglabāšanas temperatūrā līdz derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz etiķetes.
- 3 NextSeq 550Dx piederumu kaste un NextSeq 550Dx reaģentu kasetne ir stabila maksimums vienu atkausēšanas reizi līdz istabas temperatūrai pirms noteiktā derīguma termiņa beigām. Reaģentu kasetne ir stabila līdz pat sešām stundām, kad tā ir atkausēta istabas temperatūras ūdens peldē. Alternatīvi reaģentu kasetni var atkausēt no 2 °C līdz 8 °C temperatūrā līdz pat piecām dienām pirms lietošanas.
- 4 Reaģentu fiziskā izskata izmaiņas var norādīt uz materiālu bojājumu. Nelietojiet reaģentus, ja fiziskā izskata izmaiņas notiek pēc sajaukšanas, piemēram, acīmredzamas reaģentu krāsas izmaiņas vai saskatāms mikrobu piesārņojuma dulķainums.

Nepieciešamais aprīkojums un materiāli tiek pārdoti atsevišķi

- ▶ NextSeq 550Dx instruments, kataloga Nr. 20005715

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi



UZMANĪBU!

Federālie likumi ierobežo šīs ierīces tirdzniecību ārstam vai kas tiek veikta ārsta vai cita ar prakses vietas štata likumiem licencēta speciālista uzdevumā, lietošanu vai ierīces lietošanas pieprasīšanu.

- 1 NextSeq 550Dx augstas izvades reaģentu komplekts v2.5 (300 cikli) satur potenciāli bīstamas ķīmiskas vielas. Ieelpojot, norijot, saskaroties ar ādu un saskaroties ar acīm, iespējams gūt traumas. Valkājiet aizsardzības līdzekļus, tostarp acu aizsargus, cimdus un laboratorijas uzsvārci, kas atbilst ietekmes riskam. Apejieties ar lietotiem reaģentiem kā ar ķīmiskiem atkritumiem un atbrīvojieties no tiem saskaņā ar piemērojamiem reģionālajiem, valsts un vietējiem likumiem un noteikumiem.
- 2 Informāciju par vidi, veselību un drošību skatiet drošības datu lapā (DDL) vietnē support.illumina.com/sds.html.

- 3 Neievērojot aprakstītās procedūras, rezultāti var būt kļūdaini vai var ievērojami pasliktināties parauga kvalitāte.
- 4 Ievērojiet parastos laboratorijas piesardzības pasākumus. Nelietojiet pipeti, izmantojot muti. Neēdiet, nedzeriet un nesmēķējiet noteiktās darba zonās. Rīkojoties ar paraugiem un analīžu reaģentiem, valkājiet vienreizlietojamus cimdus un laboratorijas uzsvārcus. Pēc paraugu un analīžu reaģentu izmantošanas rūpīgi nomazgājiet rokas.
- 5 Ir nepieciešama pienācīga laboratorijas prakse un laba laboratorijas higiēna, lai PQR produkti nepiesārņotu reaģentus, instrumentus un genoma DNS paraugus. PQR piesārņojums var izraisīt kļūdainus un neuzticamus rezultātus.
- 6 Lai novērstu piesārņojumu, pārliecinieties, ka pirmsamplifikācijas un pēcamplifikācijas zonās ir nepieciešamais aprīkojums (piemēram, pipetes, pipetes uzgaļi, maisītājs un centrifūga).

Lietošanas instrukcija

Skatīt iepakojuma ieliktni *NextSeq 550Dx instruments* un piemērojamās atsauces rokasgrāmatas.

Veiktspējas raksturlielumi

Skatīt iepakojuma ieliktni *NextSeq 550Dx instruments*.

Patenti un preču zīmes

Šī dokumenta un tā satura īpašumtiesības pieder kompānijai Illumina, Inc. un tās saistītajiem uzņēmumiem ("Illumina"), un tos klientam paredzēts izmantot tikai līgumā noteiktajā veidā saistībā ar šajā dokumentā aprakstīto produktu lietošanu, un tie nav paredzēti citiem nolūkiem. Šo dokumentu un tā saturu nedrīkst izmantot vai izplatīt nekādiem citiem nolūkiem un/vai citādi izziņot, atklāt vai reproducēt jebkādā veidā bez iepriekšējas rakstiskas Illumina piekrišanas. Ar šo dokumentu Illumina nenodod nevienu savu patentu, preču zīmju, autortiesību vai vispārīgo tiesību licenci, kā arī nekādas līdzīgas jebkuras trešās puses tiesības.

Šajā dokumentā sniegtos norādījumus ir stingri un precīzi jāievēro kvalificētiem un atbilstoši apmācītiem darbiniekiem, lai nodrošinātu šeit aprakstītā produkta pareizu un drošu lietošanu. Pirms šī produkta lietošanas ir pilnībā jāizlasa un jāizprot viss šī dokumenta saturs.

PILNĪBĀ NEIZLASOT UN PRECĪZI NIEVĒROJOT VISUS ŠAJĀ DOKUMENTĀ IEKĻAUTOS NORĀDĪJUMUS, VAR RASTIES PRODUKTA BOJĀJUMI, PERSONU MIESAS BOJĀJUMI, TOSTARP LIETOTĀJU UN CITU PERSONU, UN CITA ĪPAŠUMA BOJĀJUMI, TURKLĀT TIKS ANULĒTAS VISAS PRODUKTAM PIEMĒROJAMĀS GARANTIJAS.

ILLUMINA NEUZŅEMAS NEKĀDU ATBILDĪBU, KAS IZRIET NO NEPAREIZAS ŠAJĀ DOKUMENTĀ APRAKSTĪTĀ PRODUKTA (TOSTARP TĀ DAĻU VAI PROGRAMMĀTŪRAS) LIETOŠANAS.

© 2020 Illumina, Inc. Visas tiesības paturētas.

Visas preču zīmes ir Illumina, Inc. vai to attiecīgo īpašnieku īpašums. Konkrētu informāciju par preču zīmēm skatiet vietnē www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktinformācija



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122, ASV

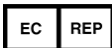
+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (ārpus Ziemeļamerikas)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

CE



Illumina Netherlands B. V.

Freddy van Riemsdijkweg 15

5657 EE Eindhoven

Niederlande

Sponsors Austrālijā

Illumina Australia Pty Ltd

Māsu asociācijas ēka

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Austrālija

Produktu marķēšana

Pilnīgu atsauci uz simboliem, kas var parādīties uz produkta iepakojuma un marķējuma, savam komplektam skatiet simbolu sarakstā vietnes support.illumina.com cilnē *Documentation and Literature* (Dokumentācija un literatūra).