

# NextSeq™ 550Dx -suurtehoreagenssisarja v2.5 (300 jaksoa)

IN VITRO -DIAGNOSTISEEN KÄYTTÖÖN

Luettelonumero 20028871

## Aiottu käyttötarkoitus

illumina NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssisarja v2.5 (300 jaksoa) on reagenssi- ja tarvikesarja, joka on tarkoitettu näytekirjastojen sekvensointiin vahvistettuja määrityksiä käyttämällä. Sarja on tarkoitettu käytettäväksi 550Dx-instrumentin ja analyttisen ohjelmiston kanssa.

## Menetelmän periaatteet

NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssisarja v2.5 (300 jaksoa) on kertakäyttöinen reagenssi- ja tarvikesarja NextSeq 550Dx -instrumentilla sekvensointiin. NextSeq 550Dx suurtehoreagenssisarjassa v2.5 (300 jaksoa) käytetään kirjastoja, jotka on luotu DNA:sta, jossa näyteindeksit ja kaappaussekvenssit lisätään vahvistettuihin kohteisiin. Näytekirjastot kaapataan virtauskyvetiin ja sekvensoidaan instrumenttiin synteessin (SBS-kemian) avulla. SBS-kemiassa käytetään palautuvan terminaattorin menetelmää fluoresoivasti merkittyjen yksittäisten nukleotidipohjien toteamiseen, kun ne sisällytetään kasvaviin DNA-säikeisiin. Näytekirjastojen määrä riippuu alkupään kirjastovalmistelumenetelmän tukemasta multipleksoinnista.

*NextSeq 550Dx -instrumentin* pakkausselosteessa annetaan ohjeet NextSeq 550Dx -instrumentin sekvensoinnin suorittamiseen.

Suorituskykyominaisuudet ja NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssisarjan v2.5 (300 jaksoa) menetelmää koskevat rajoitukset määritettiin paikallisen ajonhallinnan ituradan ja somaattisten varianttimoduulien avulla.

## Menetelmän rajoitukset

- 1 *In vitro* -diagnostiseen käyttöön.
- 2 Indeleitä (lisäykset, poistot tai yhdistelmät) sisältäviä readeja, joissa sisällön pituus on > 25 emäsparia (bp), ei kohdisteta määritysohjelmistossa. Tämän vuoksi indelit, joiden pituus on > 25 bp, eivät ole todettavissa määritysohjelmistossa.
- 3 Määritysohjelmisto ei ehkä kohdistaa amplikonin readeja, joissa on äärimmäinen sisältö, jolloin alue ilmoitetaan wild-tyyppiseksi. Tällainen äärimmäinen sisältö on muun muassa seuraavanlaista:
  - ▶ Enemmän kuin kolme indeliä sisältävät readit
  - ▶ Readit, joiden pituus on vähintään 30 bp ja joiden yksittäisen nukleotidivariantin (SNV) pitoisuus on > 4 % amplikonin kokonaiskohdepituudesta (sondialueet pois lukien)
  - ▶ Read-pituudet, jotka ovat < 30 bp ja joiden SNV-sisältö on > 10 % kokonaisamplikonipituudesta (sondialueet mukaan lukien)
- 4 Suuret variantit, muun muassa moninukleotidivariantit (MNV:t) ja suuret indelit, voidaan ilmoittaa erillisinä pienempinä variantteina VCF-tuotostiedostossa.
- 5 Deleetiovariantit voidaan suodattaa tai jättää huomiotta, kun alueena on kaksi vierekkäistä amplikonina, mikäli deleetiopituus on suurempi tai yhtä suuri kuin vierekkäisten amplikonien välinen päällekkäisyys.
- 6 Järjestelmä ei pysty toteamaan indeleitä, mikäli ne ilmenevät välittömästi alukkeen vieressä ja mikäli päällekkäistä amplikonina ei ole. Alueilla, joilla on päällekkäisiä amplikoneja, määrityksellä ei voida todeta deleetioita, kun päällekkäisyysalue on pienempi kuin todettavan deleetion koko.

Mikäli kahden vierekkäisen amplikonin välinen päällekkäisyysalue on esimerkiksi kaksi emästä, määrittämisellä ei voida todeta deleetioita, joihin molemmat emäkset sisältyvät. Yksittäisen emäksen deleetio jommankumman emäksen kohdalla voidaan todeta.

- 7 Kuten minkä tahansa hybridisaatiopohjaisen kirjaston valmistelutyönkulun yhteydessä, piilevät polymorfismit, mutaatiot, lisäykset tai poistot oligonukleotidejä sitovilla alueilla saattavat vaikuttaa tutkittaviin alleeleihin ja näin ollen sekvensoinnin aikana tehtyihin tunnistuksiin. Esimerkkejä:
  - ▶ Varianttia faasissa, jossa on variantti alukealueella, ei ehkä amplifioida, jolloin tuloksena saadaan väärä negatiivinen tulos.
  - ▶ Alukealueella olevat variantit saattavat estää viitealleelin amplifikaation, mikä johtaa virheelliseen homotsygoottisen variantin tunnistamiseen.
  - ▶ Alukealueella olevat indelivariantit saattavat aiheuttaa väärän positiivisen tunnistuksen alukkeen vieressä olevan readin päässä.
- 8 Indelit voidaan suodattaa säikeen vääristymän vuoksi, jos ne ilmenevät yhden readin pään lähellä ja jos ne leikataan pehmeästi kohdistuksen aikana.
- 9 Pieniä MNV-kohteita ei ole validoitu, ja ne vain ilmoitetaan somaattisessa varianttimoduulissa.
- 10 Deleetioista ilmoitetaan VCF:ssä VCF-formaatin edellisen emäksen koordinaateissa. Näin ollen ota huomioon viereiset variantit ennen kuin ilmoitat yksittäisen emästunnistuksen homotsygoottiseksi viitteeksi.
- 11 Ituratakohtaiset rajoitukset:
  - ▶ NextSeq 550Dx -instrumentti, jossa käytetään paikallisen ajon hallinnan ituratavarianttimoduulia NextSeq 550Dx:lle, on suunniteltu toimittamaan kvalitatiivisia tuloksia ituradan varianttien tunnistamisesta (esim. homotsygoottinen, heterotsygoottinen, wild-tyyppi).
  - ▶ Ituratavarianttimoduulin kanssa käytettynä oikeelliseen variantin tunnistamiseen tarvitaan vähintään 150x:n kattavuus amplikonia kohti. Tämän vuoksi tarvitaan 150 tukevaa DNA-fragmenttia, mikä vastaa 300 päällekkäistä parillisen pään readia. Näytteiden määrä ja kohdennettujen emästen kokonaismäärä vaikuttavat kattavuuteen. GC-pitoisuus ja muu genomipitoisuus saattavat vaikuttaa kattavuuteen.
  - ▶ Jäljennösmäärien variaatio saattaa vaikuttaa siihen, tunnistetaanko variantti homotsygoottiseksi vai heterotsygoottiseksi.
  - ▶ Tietyssä toistuvassa kontekstissa variantit suodatetaan pois VCF-tiedostoissa. RMxN-toistosuodatinta käytetään suodattamaan variantteja, mikäli varianttisekvenssi on osittain tai kokonaan toistuvasti läsnä varianttiaseman viereisessä viitegenomissa. Ituradan variantin tunnistamisessa tarvitaan vähintään yhdeksän toistoa viitteessä, jotta variantti voidaan suodattaa, ja huomioon otetaan vain toistot, joiden pituus on enintään 5 bp (R5x9).
  - ▶ Yksittäisessä lokuksessa oleva indeli ja SNV saattavat johtaa vain yhdestä variantista ilmoittamiseen.
- 12 Somaattis-spesifiset rajoitukset:
  - ▶ NextSeq 550Dx -instrumentti, jossa käytetään paikallisen ajon hallinnan somaattista varianttimoduulia NextSeq 550Dx:lle, on suunniteltu toimittamaan kvalitatiivisia tuloksia somaattisen variantin tunnistamiseen (esim. sellaisen somaattisen variantin läsnäolo, jonka taajuus  $\geq 0,026$  ja toteamisraja 0,05).
  - ▶ Somaattisen varianttimoduulin kanssa käytettynä oikeelliseen variantin tunnistamiseen tarvitaan vähintään 450x:n kattavuus oligonukleotidipoolia kohti. Tämän vuoksi tarvitaan 450 tukevaa DNA-fragmenttia oligonukleotidipoolia, mikä vastaa 900 päällekkäistä parillisen pään readia. Näytteiden määrä ja kohdennettujen emästen kokonaismäärä vaikuttavat kattavuuteen. GC-pitoisuus ja muu genomipitoisuus saattavat vaikuttaa kattavuuteen.
  - ▶ Somaattisen variantin tunnistamisessa tarvitaan vähintään kuusi toistoa viitteessä, jotta variantti voidaan suodattaa, ja huomioon otetaan vain toistot, joiden pituus on enintään 3 bp (R3x6).
  - ▶ Somaattinen varianttimoduuli ei voi tehdä eroa ituradan ja somaattisten varianttien välillä. Moduuli on suunniteltu toteamaan variantteja varianttien taajuusalueiden poikki, mutta varianttien taajuutta ei voida käyttää erottamaan somaattisia variantteja ituratavarianteista.
  - ▶ Näytteessä oleva normaali kudosisäilytys vaikuttaa varianttien toteamiseen. Ilmoitettu toteamisraja perustuu varianttitaajuuteen suhteessa sekä tuumorista että normaalista kudoksesta poimittuun kokonais-DNA:han.

## Reagenssisarjan osat

NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssisarjan v2.5 (300 jaksoa) kukin komponentti toimitetaan erillisessä laatikossa. Varastoi tarvikkeet viipymättä ilmoitettuun lämpötilaan oikean suorituskyvyn varmistamiseksi. Seuraavassa on luettelo reagenssisarjan osista.

Taulukko 1 Reagenssisarjan osat

Osa	Määrä	Täyttötilavuus	Kuvaus	Varastointi*
NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssikasetti v2 (300 jaksoa)	1 kutakin	Vaihtelee	Klusterointi- ja sekvensointireagenssit	-25 °C...-15 °C
NextSeq 550Dx -puskurikasetti v2 (300 jaksoa)	1 kutakin	Vaihtelee	Puskurit ja pesuliuos	15–30 °C
NextSeq 550Dx -suurtehovirtauskyvettikasetti v2.5 (300 jaksoa)	1 kutakin	–	Kertakäyttöinen, parillinen pää, lasinen virtauskyvetti	2–8 °C
NextSeq 550Dx -tarvikelaatikko (300 jaksoa)	1 putki	12 ml	Kirjaston laimennuspuskuri	-25 °C...-15 °C

NextSeq 550Dx -suurtehovirtauskyvettikasetti v2.5 (300 jaksoa) toimitetaan ympäristön lämpötilassa.

## Eränumerot

Reagenssisarjalla on yksi eränumero, johon viitataan reagenssisarjan eränumerona. Reagenssisarjan kuhunkin laatikkoon on painettu reagenssisarjan eränumero. Laatikoiden sisällä oleviin reagenssisarjan komponentteihin on painettu komponenttikohtaiset eränumerot, jotka eroavat reagenssisarjan eränumerosta. Pidä sekvenssoinnin kulutustarvikkeet laatikoissaan, kunnes olet valmis käyttämään niitä, jotta sarjan vastaavuudet säilyvät. Katso reagenssisarjan analyysisertifikaatista reagenssien osanumeroiden ja eränumeroiden tarkat tiedot.

## Säilytys ja käsittely

- 1 Huoneen lämpötilan määritelmänä on 15–30 °C.
- 2 Reagenssisarjan sarjan komponentit ovat stabiileja etiketissä mainittuun vanhenemispäivämäärään asti, kun ne säilytetään ilmoitetuissa säilytyslämpötiloissa.
- 3 NextSeq 550Dx -tarvikelaatikko ja NextSeq 550Dx -reagenssikasetti ovat stabiileja enintään yhden huoneenlämpöön sulatuksen verran ennen määritettyä vanhenemispäivää. Reagenssikasetti on stabiili enintään 6 tunnin ajan, kun se sulatetaan huoneenlämpöisessä vesihauteessa. Vaihtoehtoisesti reagenssikasettia voidaan sulattaa 2–8 °C:n lämpötilassa enintään 5 vuorokauden ajan ennen käyttöä.
- 4 Reagenssien fyysisen ulkoasun muutos voi olla osoitus materiaalien huononemisesta. Jos sekoittamisen jälkeen ilmenee fyysisen ulkoasun muutoksia, kuten reagenssin värin ilmiselviä muutoksia tai mikrobikontaminaatiolle ominaista sakkaisuutta, älä käytä reagensseja.

## Tarvittavat, erikseen myytävät välineet ja materiaalit

- ▶ NextSeq 550Dx -instrumentti, kuvastonro 20005715

## Varoitukset ja varotoimet



### VAROITUS

USA:n liittovaltion laki rajoittaa tämän laitteen myyntiä niin, että sen saa myydä vain lääkäri tai muu terveydenhoidon ammattilainen, jolla on kyseisen osavaltion luvat ammatin harjoittamiseen. Sama koskee laitteen käyttöä tai sen määräämistä käyttöön.

- 1 NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssisarja v2.5 (300 jaksoa) sisältää mahdollisesti vaarallisia kemikaaleja. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä altistumisriskiä vastaavia henkilönsuojaimia, kuten silmiensuojaimia, suojakäsineitä ja laboratoriotakkia. Käsittele käytettyjä reagensseja kemiallisena jätteenä ja hävitä ne sovellettavien alueellisten, kansallisten ja paikallisten lakien ja säädösten mukaisesti.
- 2 Katso ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia tietoja käyttöturvallisuustiedotteesta (KTT) osoitteessa [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).
- 3 Jos annettuja ohjeita ei noudateta, tuloksena voivat olla virheelliset tulokset tai näytteiden laadun merkittävä heikentyminen.
- 4 Noudata normaaleja laboratoriotyön varotoimia. Älä pipetoi suun avulla. Älä syö, juo tai tupakoi työhön varatuilla alueilla. Käytä kertakäyttöisiä hansikkaita ja laboratoriotakkeja, kun käsittelet näytteitä tai määritysreagensseja. Pese kädet huolellisesti näytteiden ja määritysreagenssien käsittelyn jälkeen.
- 5 On noudatettava asianmukaisia laboratoriotyön käytänteitä ja hyvää laboratoriotyön hygieniää, jotta reagenssit, instrumentit ja DNA-genominäytteet eivät kontaminoidu. PCR-kontaminaatio voi aiheuttaa epätarkkoja ja epäluotettavia tuloksia.
- 6 Jotta kontaminoituminen voidaan välttää, varmista, että vahvistusta edeltävän ja sen jälkeisen työn alueilla on työvaiheisiin tarkoitetut laitteet ja varusteet (esimerkiksi pipetit, pipettikärjet, koeputkiravisteliija ja sentrifugi).

## Käyttöohjeet

Katso *NextSeq 550Dx -instrumentin* pakkausseloste ja sovellettavat viiteoppaat.

## Suorituskykyominaisuudet

Katso *NextSeq 550Dx -instrumentin* pakkausseloste.

## Patentit ja tavaramerkit

Tämä asiakirja ja sen sisältö ovat Illumina, Inc:n ja sen tytäryhtiöiden ("Illumina") omaisuutta, ja ne on tarkoitettu ainoastaan Illuminan asiakkaiden sopimuskäyttöön tässä kuvattujen tuotteiden käyttöön liittyen eikä mihinkään muuhun tarkoitukseen. Tätä asiakirjaa ja sen sisältöä ei saa käyttää tai jakaa missään muussa tarkoituksessa ja/tai välittää, paljastaa tai jäljentää millään muulla tavoin ilman Illuminalta ennakkoon saatua kirjallista lupaa. Illumina ei tällä asiakirjalla luovuta mitään käyttöoikeuksia sen patenti-, tavaramerkki-, tekijänoikeus- tai tapaoikeuksien nojalla eikä vastaavien kolmansien osapuolten oikeuksien nojalla.

Tässä kuvattuja tuotteita saa käyttää vain pätevä ja asianmukaisesti koulutettu henkilökunta noudattamalla täsmällisesti tässä asiakirjassa annettuja ohjeita, jotta tuotteiden asianmukainen ja turvallinen käyttö voidaan taata. Asiakirjan sisältö on luettava ja ymmärrettävä kokonaisuudessaan ennen näiden tuotteiden käyttöä.

MIKÄLI TÄSSÄ ANNETTUJA OHJEITA EI LUETA JA TÄSMÄLLISESTI NOUDATETA, SEURAUKSENA VOI OLLA TUOTTEIDEN VAURIOITUMINEN, HENKILÖVAHINKOJA JOKO KÄYTTÄJILLE TAI MUILLE JA MUITA OMAISUUSVAHINKOJA, MINKÄ LISÄKSI TUOTTEITA MAHDOLLISESTI KOSKEVAT TAKUUT MITÄTÖITYVÄT.

ILLUMINA EI OLE VASTUUSSA TÄSSÄ KUVATTUJEN TUOTTEIDEN VÄÄRINKÄYTÖSTÄ (MUKAAN LUKIEN TUOTTEEN OSAT JA OHJELMISTO).

© 2021 Illumina, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

Kaikki tavaramerkit ovat Illumina, Inc:n tai niiden vastaavien omistajien omaisuutta. Tarkemmat tavaramerkkitiedot annetaan osoitteessa [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Yhteystiedot



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1 800 809.ILMN (4566)  
+1 858 202 4566 (Pohjois-Amerikan ulkopuolella)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



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

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

## Tuotteiden merkinnät

Katso tuotteen pakkauksessa ja merkinnöissä käytettyjen symbolien selitykset osoitteesta [support.illumina.com](https://support.illumina.com) käyttämäsi sarjan välilehdeltä *Dokumentaatio ja kirjallisuus*.