

„NextSeq™ 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinys v2.5 (300 ciklų)

NAUDOTI IN VITRO DIAGNOSTIKAI

Katalogas, Nr. 20019554

Taikymas

„Illumina NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinys v2.5 (300 ciklų) yra reagentų ir eksploatacinių medžiagų rinkinys, skirtas mėginių bibliotekų sekoskaitai naudojant patvirtintiems tyrimams. Rinkinys skirtas naudoti su „NextSeq 550Dx“ instrumentu ir analitine programine įranga.

Procedūros principai

„NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinys v2.5 (300 ciklų) yra vienkartinis reagentų ir eksploatacinių medžiagų rinkinys, skirtas instrumento „NextSeq 550Dx“ sekoskaitai. „NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinys v2.5 (300 ciklų) įvestyje naudoja bibliotekas, sukurtas iš DNR, kur mėginio indeksai ir užfiksuotos sekos pridedamos prie amplifikuotų taikinių. Mėginių bibliotekos užfiksuojamos pratekamojoje kiuvetėje ir instrumente per sekoskaitą sintezės metu (SSM) Sekoskaitos sintezės metu (SBS) naudojamas ciklinio grįžtamojo blokavimo metodas aptikti fluorescenciškai pažymėtas pavienių nukleotidų bazes, kurios yra įtrauktos į augančias DNR grandines.

Mėginių bibliotekų skaičius priklauso nuo multipleksavimo, kurį palaiko ankstesnės bibliotekos paruošimo metodas.

Pakuotės lapelyje „NextSeq 550Dx“ instrumentas pateiktos instrukcijos, kaip atlikti sekoskaitą naudojant „NextSeq 550Dx“ instrumentą.

„NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinio v2.5 (300 ciklų) procedūros charakteristikos ir apribojimai buvo nustatyti naudojant „Local Run Manager Germline“ ir „Somatic Variant“ modulius.

Procedūros apribojimai

- 1 Naudoti *in vitro* diagnostikai.
- 2 Tyrimo programinė įranga nėra pritaikyta nuskaitymams su iškritomis / intarpais arba jų deriniais, kai turinio ilgis yra >25 bazių poros (bp). Taigi tyrimo programinė įranga neaptinka >25 bp intarpų / iškritų.
- 3 Tyrimo programinė įranga gali nesulygiuoti amplikonų nuskaitymų, kurių turinys yra itin didelis, todėl sritis gali būti laikoma nemutantinio tipo. Itin didelio turinio pavyzdžiai:
 - ▶ Nuskaitymai, kuriuose yra daugiau nei trys intarpai / iškritos
 - ▶ Mažiausiai 30 bp ilgio nuskaitymai su vieno nukleotidų varianto (SNV) turiniu yra >4 % viso amplikono tikslinio ilgio (išskyrus zondo sritis)
 - ▶ Nuskaitymai, kurių ilgis <30 bp, o SNV turinys >10 % viso amplikonų tikslinio ilgio (įskaitant zondo sritis)
- 4 Dideli variantai, įskaitant daugianukleotidinius variantus (MNV) ir dideles iškritas / intarpus, išvestiniame VCF faile gali būti pateikiami kaip atskiri mažesni variantai.
- 5 Iškritų variantai gali būti išfiltruojami arba praleidžiami, jei jie driekiasi per du gretimus amplikonus, jei iškritos ilgis yra didesnis už persidengimą tarp gretimų amplikonų arba lygus jam.

- 6 Sistema negali aptikti intarpų / iškritų, jei jie yra tiesiogiai šalia pradmens ir nėra persidengiančių amplikonų. Sričių, kur yra persidengiančių amplikonų, tyrimas negali aptikti iškritų, kai persidengimo sritis yra mažesnė už aptinkamo dydžio iškritą. Pavyzdžiui, jei dviejų gretimų amplikonų persidengimo sritis yra dvi bazės, tyrimas negali aptikti jokių iškritų, įskaitant abi šias bazes. Galima aptikti vienos bazės iškritą bet kurioje iš šių bazių.
- 7 Kaip ir bet kokios hibridizavimu pagrįstos bibliotekos paruošimo darbo eigoje, pagrindiniai polimorfizmai, mutacijos, intarpai ar iškritos oligonukleotidus rišančiose srityse gali turėti įtakos zonduojamiems aleliams ir atitinkamai sekoskaitos metu atliekamiems priskyrimams. Pavyzdžiui:
 - ▶ Variantas fazėje gali būti neamplifikuotas su variantu pradmens srityje, todėl rezultatas gali būti klaidingai neigiamas.
 - ▶ Variantai pradmens srityje gali neleisti įvykti referentinio alelio amplifikacijai, dėl to gali įvykti neteisingas homozigotinio varianto priskyrimas.
 - ▶ Intarpų / iškritų variantai pradmens srityje gali sukelti klaidingą teigiamą priskyrimą nuskaitymo pabaigoje šalia pradmens.
- 8 Intarpai / iškritos gali būti filtruojami dėl grandinių tendencingumo, jei jie atsiranda ties vieno nuskaitymo pabaiga ir atliekant lygiavimą nėra sulygiuojami, tačiau nepašalinami.
- 9 Mažos MNV nepatvirtintos ir įtrauktos į ataskaitą tik „Somatic Variant“ modulyje.
- 10 Iškritos įtrauktos į ataskaitą VCF prie ankstesnės bazės VCF formato koordinatės, todėl prieš įtraukdami į ataskaitą, patikrinkite gretimus variantus, ar gretimas bazės priskyrimas yra homozigotinis referentas.
- 11 Gonocitų linijai taikomi apribojimai:
 - ▶ „NextSeq 550Dx“ instrumentas, naudojantis „Local Run Manager“ gonocitų linijos varianto modulį, skirtą „NextSeq 550Dx“, yra sukurtas kokybiniais gonocitų linijos variantų priskyrimo rezultatams pateikti (pvz., homozigotiniam, heterozigotiniam, nemutantinio tipo).
 - ▶ Naudojant kartu su „Germline Variant“ moduliu, mažiausia reikalinga aprėptis vienam amplikonui, kad būtų gautas tikslaus varianto priskyrimas, yra 150x. Dėl to reikia 150 palaikančių DNR fragmentų, o tai priylgsta 300 persidengiančių suporuotų pagal galus nuskaitymų. Mėginių skaičius ir bendras tikslinių bazių skaičius turi įtakos aprėpčiai. GC kiekis ir kitas genomo turinys gali turėti įtakos aprėpčiai.
 - ▶ Kopijų skaičiaus kitimas gali turėti įtakos tam, ar variantas identifikuojamas kaip homozigotinis ar heterozigotinis.
 - ▶ Variantai tam tikruose pasikartojančiuose kontekstuose yra filtruojami VCF failuose. Kartotinis RMxN filtras naudojamas variantams filtruoti, jei visa variantų seka ar jos dalis pakartotinai matoma referenciniame genome šalia varianto padėties. Gonocitų linijos varianto priskyrimo atveju, norint filtruoti variantą, reikia bent devynių referentinio geno pakartojimų, ir tinka tik pakartojimai, ne ilgesni kaip 5 bp (R5x9).
 - ▶ Jei vienoje padėtyje yra intarpas / iškrita ir SNV, gali būti nurodomas tik vienas variantas.
- 12 Somatiniams variantams taikomi apribojimai:
 - ▶ „NextSeq 550Dx“ instrumentas, naudojantis „Local Run Manager“ somatinių variantų modulį, skirtą „NextSeq 550Dx“, yra skirtas somatinių variantų priskyrimo kokybiniais rezultatams pateikti (pvz., somatinis variantas, kurio varianto dažnis yra $\geq 0,026$, o aptikimo riba yra 0,05).
 - ▶ Naudojant kartu su „Somatic Variant“ moduliu, mažiausia reikalinga aprėptis vienam amplikonui, kad būtų gautas tikslaus varianto priskyrimas, yra 450x vienam oligonukleotidų telkiniui. Dėl to reikia 450 palaikančių DNR fragmentų oligonukleotidų telkiniui, o tai priylgsta 900 persidengiančių suporuotų pagal galus nuskaitymų. Mėginių skaičius ir bendras tikslinių bazių skaičius turi įtakos aprėpčiai. GC kiekis ir kitas genomo turinys gali turėti įtakos aprėpčiai.
 - ▶ Somatinio varianto priskyrimo atveju, norint filtruoti variantą, reikia bent šešių referencinių pakartojimų, ir svarstomi tik tie pakartojimai, kurių ilgis yra iki 3 bp (R3x6).
 - ▶ Somatinio varianto modulis negali atskirti gonocitų linijos ir somatinių variantų. Modulis skirtas aptikti variantams plataus intervalo variantų dažniuose, tačiau varianto dažnis negali būti naudojamas norint atskirti somatinius variantus nuo gonocitų linijos variantų.
 - ▶ Normalus audinys mėginyje turi įtakos variantų aptikimui. Į ataskaitą įtraukta aptikimo riba yra pagrįsta santykinio varianto dažniu, nustatytu pagal visą DNR, gautą iš naviko ir normalaus audinio.

Reagentų rinkinio komponentai

Kiekvienas „NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinio v2.5 (300 ciklų) komponentas pateikiamas atskiroje dėžėje. Nedelsdami perkeltkite komponentus į laikymo vietą, kurioje palaikoma nurodyta temperatūra, kad jie neprarastų savybių. Toliau pateiktas reagentų rinkinio komponentų sąrašas.

1 lent. Reagentų rinkinio komponentai

Komponentas	Kiekis	Užpildymo tūris	Aprašymas	Laikymas*
„NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų kasetė v2 (300 ciklų)	Po 1	Įvairūs	Spiečių ir sekų nustatymo reagentai	Nuo –25 iki –15 °C
„NextSeq 550Dx“ buferinio tirpalo kasetė v2 (300 ciklų)	Po 1	Įvairūs	Buferiniai tirpalai ir plovimo tirpalas	Nuo 15 °C iki 30 °C
„NextSeq 550Dx“ didelio našumo pratekamosios kiuvetės kasetė v2.5 (300 ciklų)	Po 1	Netaikoma	Vienkartinė, suporuota pagal galą, stiklinė pratekamoji kiuvetė	2–8 °C
„NextSeq 550Dx“ priedų dėžė (300 ciklų)	1 mėgintuvėlis	12 ml	Bibliotekos skiedimo buferinis tirpalas	Nuo –25 iki –15 °C

*„NextSeq 550Dx“ didelės išvesties reagentų v2.5 (300 ciklų) rinkiniai pristatomi kambario temperatūros.

Partijų numeriai

Reagentų rinkinys turi vieną partijos numerį, kuris vadinamas reagento rinkinio partijos numeriu. Ant kiekvienos reagentų rinkinio dėžės yra atspausdintas reagentų rinkinio partijos numeris. Ant reagentų rinkinio komponentų, esančių dėžėse, yra atspausdinti specialūs komponentų partijų numeriai, kurie skiriasi nuo reagentų rinkinio partijos numerio. Iki naudojimo laikykite paeiliui sunumeruotas eksploatacines medžiagas dėžėse, kad rinkiniai nepasimestų iš savo partijų. Norėdami sužinoti daugiau apie reagentų dalių ir partijų numerius, žiūrėkite reagentų rinkinio analizės sertifikatą.

Laikymas ir naudojimas

- 1 Patalpos temperatūra nustatoma nuo 15 °C iki 30 °C.
- 2 Reagentų rinkinio komponentai yra pristatomi kontroliuojamos temperatūros talpose ir išlieka nepakitę sandėliuojant nurodytoje laikymo temperatūroje iki galiojimo termino pabaigos, kuri pateikta etiketėje.
- 3 „NextSeq 550Dx“ priedų dėžė ir „NextSeq 550Dx“ reagentų kasetė išlieka nepakitusios ne ilgiau kaip vieną atšildymą iki kambario temperatūros iki nurodyto galiojimo termino pabaigos. Reagentų kasetė išlieka stabili iki 6 valandų, atšildžius ją kambario temperatūros vandens vonelėje. Taip pat reagentų kasetę galima atšildyti 2–8 °C temperatūroje iki 5 dienų prieš naudojimą.
- 4 Reagentų išvaizdos pokyčiai gali reikšti, kad medžiagos yra sugadintos. Jei sumaišius pasikeičia reagentų išvaizda, pvz., akivaizdžiai pakinta spalva arba atsiranda drumzlių galimai dėl mikrobiinių teršalų, reagentų nenaudokite.

Reikalinga įranga ir medžiagos, parduodama atskirai

- ▶ „NextSeq 550Dx“ instrumentas, katalogo Nr. 20005715

Įspėjimai ir atsargumo priemonės



DĖMESIO

Federaliniai įstatymai draudžia šį prietaisą pardavinėti ar užsakinėti gydytojui ar kitam specialistui, kuriam išduota licencija pagal valstybės, kurioje jis (ji) praktikuoja, įstatymus, naudoti ar užsakyti prietaiso naudojimo paslaugą.

- 1 „NextSeq 550Dx“ didelio našumo reagentų rinkinyje v2.5 (300 ciklų) yra potencialiai pavojingų cheminių medžiagų. Pavojus žmogui kyla įkvėpus, nurijus, patekus ant odos ir į akis. Dėvėkite tinkamai nuo pavojaus saugančias apsaugines priemones, įskaitant akių apsaugos priemones, pirštines ir laboratorinį chalata. Panaudotus reagentus tvarkykite kaip chemines atliekas ir utilizuokite laikydamiesi taikomų regiono, nacionalinių ir vietinių įstatymų bei teisės aktų.
- 2 Aplinkosaugos, sveikatos ir saugos informacijos ieškokite saugos duomenų lape (SDS) adresu support.illumina.com/sds.html.
- 3 Nesilaikant nurodytų procedūrų, rezultatai gali būti klaidingi arba gerokai pablogėti mėginių kokybė.
- 4 Laikykitės įprastų laboratorinių atsargumo priemonių. Nesiurbkite pipete, naudodami burną. Darbo vietoje nevalgykite, negerkite ir nerūkykite. Dirbdami su mėginiais ir tyrimo reagentais, mūvėkite vienkartinės pirštines ir laboratorinius chalatus. Baigę darbą su mėginiais ir tyrimo reagentais kruopščiai nusiplaukite rankas.
- 5 Norint, kad PGR produktai neužterštų reagentų, instrumentų ir genomo DNR mėginių, būtina laikytis tinkamos laboratorinės praktikos ir laboratorinės higienos taisyklių. PGR užteršimas gali lemti netikslius ir nepatikimus rezultatus.
- 6 Norėdami išvengti užteršimo, pasirūpinkite, kad prieš amplifikaciją ir po jos būtų naudojama speciali įranga (pvz., pipetės, pipečių antgaliai, maišytuvai ir centrifugos).

Naudojimo instrukcija

Žr. „NextSeq 550Dx“ *instrumento* pakuotės lapelį ir susijusius naudojimo vadovus.

Charakteristikos

Žr. „NextSeq 550Dx“ *instrumento* pakuotės lapelį.

Patentai ir prekių ženklai

Šis dokumentas ir jo turinys priklauso „Illumina, Inc.“ ir jos filialams („Illumina“), jis skirtas tik klientui naudoti pagal sutartį, kiek tai susiję su čia aprašyto (-ų) produkto (-ų) naudojimu, ir jokių kitu tikslu. Šis dokumentas ir jo turinys negali būti naudojami ar platinami jokių kitu tikslu ir (arba) kitaip negali būti pateikiami, atskleidžiami ar atkuriami koku nors būdu be išankstinio rašytinio „Illumina“ sutikimo. „Illumina“ šiuo dokumentu neperduoda jokios trečiosios šalies licencijos pagal jos patentą, prekės ženklą, autorių teises, bendras teises nei panašių teisių.

Kvalifikuotas ir tinkamai išmokytas personalas turi griežtai ir aiškiai vadovautis šiame dokumente pateiktomis instrukcijomis, kad būtų užtikrintas tinkamas ir saugus šiame dokumente aprašyto (-ų) produkto (-ų) naudojimas. Prieš naudojant tokį (-ius) produktą (-us), visas šio dokumento turinys turi būti išsamiai perskaitytas ir suprastas.

JEI NEBUS PERSKAITYTOS VISOS ČIA PATEIKTOS INSTRUKCIJOS IR JOMIS NEBUS AIŠKIAI VADOVAUJAMASI, GALIMAS PRODUKTO (-Ų) PAŽEIDIMAS, NAUDOTOJO BEI KITŲ ASMENŲ SUŽEIDIMAS IR ŽALA KITAI NUOSAVYBEI, BE TO, TAI PANAIKINA PRODUKTUI (-AMS) TAIKOMOS GARANTIJOS GALIOJIMĄ.

„ILLUMINA“ NEPRISIIMA JOKIOS ATSAKOMYBĖS, JEI ČIA APRAŠOMAS (-I) PRODUKTAS (-AI) (ĮSKAITANT DALIS IR PROGRAMINĘ ĮRANGĄ) NAUDOJAMAS (-I) NETINKAMAI.

© 2021 m. „Illumina, Inc.“. Visos teisės saugomos.

Visi prekių ženklai priklauso „Illumina, Inc.“ ar kitiems savininkams. Informacijos apie konkrečius prekių ženklus ieškokite adresu www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktinė informacija



„Illumina“

5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 JAV
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (ne Šiaurės Amerikoje)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Užsakovas Australijoje

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

Gaminio ženklimas

Norėdami rasti išsamią informaciją apie simbolius, kurių gali būti ant gaminio pakuotės ir etiketės, apsilankykite adresu support.illumina.com, eikite į rinkinio kortelę *Documentation and Literature* (dokumentacija ir literatūra) ir ieškokite simbolio paaiškinimo.