

# NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklov)

SAMO ZA IN VITRO DIAGNOSTIČNO UPORABO

Kataloška št. 20028871

## Predvidena uporaba

Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklov) je komplet reagentov in potrošnega materiala, ki je namenjen sekvenciranju knjižnic vzorcev, kadar se uporablja z validiranimi testi. Komplet je namenjen uporabi z instrumentom Instrument NextSeq 550Dx in analitično programsko opremo.

## Načela postopka

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklov) je specializiran komplet reagentov in potrošnega materiala za enkratno uporabo za sekvenciranje na Instrument NextSeq 550Dx. Za svoj vnos NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklov) uporablja knjižnice, ustvarjene iz DNK, kjer se vzorčni indeksi in zajete sekvence dodajo pomnoženim tarčam. Knjižnice vzorcev se zajamejo na pretočni celici in sekvencirajo na instrumentu z uporabo kemičnega postopka sekvenciranja po sintezi (SBS). Kemični postopek SBS uporablja metodo reverzibilnega terminatorja za zaznavanje fluorescenčno označenih posameznih nukleotidnih baz, ko so vključene v rastoče verige DNK. Število knjižnic vzorcev je odvisno od multipleksiranja, ki ga podpira metoda priprave knjižnice navzgor.

Navodila za uporabo *instrumenta NextSeq 550Dx* vsebujejo navodila za izvajanje sekvenciranja s sistemom Instrument NextSeq 550Dx.

Značilnosti delovanja in omejitve postopka za NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklov) so bile ugotovljene z uporabo modulov Germline Variant in Somatic Variant Local Run Manager.

## Omejitve postopka

- 1 Za *in vitro* diagnostično uporabo.
- 2 Odčitkov z indeli (insercije, delecije ali kombinacije), pri katerih je dolžina vsebine > 25 bp, programska oprema testa ne poravna. Zato indelov dolžine > 25 bp s programsko opremo za teste ni mogoče zaznati.
- 3 Programska oprema za teste morda ne bo poravnala odčitavanja amplikona z ekstremno vsebnostjo, zaradi česar se regija poroča kot divji tip. Takšna ekstremna vsebnost vključuje:
  - ▶ odčitke, ki vsebujejo več kot tri indele
  - ▶ odčitavanja z dolžino vsaj 30 bp z vsebnostjo variant posameznega nukleotida (SNV) > 4 % skupne tarčne dolžine amplikona (razen regij sonde);
  - ▶ odčitke z dolžino < 30 bp z vsebnostjo SNV > 10 % skupne dolžine amplikona (vključno z regijami sonde)
- 4 Velike variante, vključno z multinukleotidnimi variantami (MNV) in velikimi indeli, se lahko v izhodni datoteki VCF poročajo kot ločene manjše variante.
- 5 Delecijske variante se lahko filtrirajo ali spregledajo, kadar segajo čez dva prekrivajoča se amplikona, če je dolžina delecije večja ali enaka prekrivanju med njima.
- 6 Sistem ne more zaznati indelov, če se pojavijo neposredno ob začetniku in ni prekrivajočega se amplikona. Za regije s prekrivajočimi se amplikoni test ne more zaznati delecij, če je območje prekrivanja manjše od velikosti

- delecije, ki jo je treba zaznati. Na primer, če je regija prekrivanja med dvema sosednjima amplikonoma dve bazi, test ne more zaznati nobenih delecij, vključno z obema bazama. Zazna se lahko delecija ene baze katere koli od teh baz.
- 7 Tako kot pri vseh potekih dela priprave knjižnice, ki temeljijo na hibridizaciji, lahko osnovni polimorfizmi, mutacije, insercije ali delecije v regijah, ki vežejo oligonukleotid, vplivajo na alele, ki se sondirajo, in posledično na določitve, ki se izvajajo med sekvenciranjem. Na primer:
    - ▶ Varianta, ki je v fazi z varianto v regiji začetnega oligonukleotida, morda ne bo pomnožena, kar bo povzročilo lažno negativen rezultat.
    - ▶ Variante v regiji začetnega oligonukleotida lahko preprečijo pomnoževanje referenčnega alela, kar ima za posledico nepravilo homozigotno določitev variante.
    - ▶ Indel variante v regiji začetnega oligonukleotida lahko povzročijo lažno pozitivno določitev na koncu odčitka, ki meji na začetni oligonukleotid.
  - 8 Indeli se lahko filtrirajo zaradi pristranskosti verige, če se nahajajo blizu konca enega odčitka in so med poravnavo mehko izrezani („soft-clipped“).
  - 9 Majhni MNV-ji niso bili validirani in jih sporoči samo modul Somatic Variant.
  - 10 Delecije so v datoteki VCF poročane na koordinatnem območju predhodne baze glede na format VCF. Zato razmislite o sosednjih variantah, preden poročate, da je posamezna določitev baze homozigotna referenca.
  - 11 Omejitve, specifične za zarodne linije:
    - ▶ Instrument NextSeq 550Dx, z uporabo modula Germline Variant Local Run Manager za NextSeq 550Dx, je zasnovan tako, da daje kvalitativne rezultate za določanje variant zarodne linije (npr. homozigotna, heterozigotna, divji tip).
    - ▶ Pri uporabi z modulom Germline Variant je najmanjša pokritost na amplikon, potrebna za natančno določitev variante, 150 x. Zato je potrebnih 150 podpornih fragmentov DNK, kar je enakovredno 300 prekrivajočim odčitkom z obeh koncev. Na pokritost vplivata število vzorcev in skupno število tarčnih baz. Na pokritost lahko vplivata vsebnost GC in druga genomska sestava.
    - ▶ Sprememba števila kopij lahko vpliva na to, ali je varianta opredeljena kot homozigotna ali heterozigotna.
    - ▶ Variante v določenem ponavljajočem se kontekstu so v datotekah VCF izločene. Filter RMxN ponovitev se uporablja za filtriranje variant, če je celotna sekvenca variante ali njen del večkrat prisoten v referenčnem genomu, ki meji na položaj variante. Za določanje variant zarodne linije je potrebnih vsaj devet ponovitev v referenci, da se varianta filtrira, in se upoštevajo samo ponovitve z dolžino do 5 bp (R5x9).
    - ▶ Indel in SNV na enem samem lokusu lahko povzročita, da je poročana samo ena varianta.
  - 12 Somatsko specifične omejitve:
    - ▶ Instrument NextSeq 550Dx, z uporabo modula Somatic Variant Local Run Manager za NextSeq 550Dx, je zasnovan tako, da daje kvalitativne rezultate za določanje somatskih variant (npr. prisotnost somatske variante z variantno frekvenco,  $\geq 0,026$  z mejo zaznavanja 0,05).
    - ▶ Pri uporabi z modulom Somatic Variant je najmanjša pokritost na amplikon, potrebna za natančno določitev variante, 450 x na zbirke oligonukleotidov. Zato je potrebnih 450 podpornih fragmentov DNK na zbirke oligonukleotidov, kar je enakovredno 900 prekrivajočim odčitkom z obeh koncev. Na pokritost vplivata število vzorcev in skupno število tarčnih baz. Na pokritost lahko vplivata vsebnost GC in druga genomska sestava.
    - ▶ Za določanje somatskih variant je potrebnih vsaj šest ponovitev v referenci, da se varianta filtrira, in se upoštevajo samo ponovitve z dolžino do 3 bp (R3x6).
    - ▶ Modul Somatic Variant ne more razlikovati med zarodnimi in somatskimi variantami. Modul je zasnovan za zaznavanje variant z različnimi frekvencami variant, vendar frekvence variant ni mogoče uporabiti za razlikovanje somatskih variant od variant zarodne linije.
    - ▶ Normalno tkivo v vzorcu vpliva na zaznavanje variant. Poročana meja zaznavnosti temelji na pogostosti različice glede na celokupno DNK, pridobljeno tako iz tumorja kot tudi iz normalnega tkiva.

## Komponente kompleta reagentov

Vsaka komponenta NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklov) je na voljo v ločeni škatli. Komponente nemudoma shranite pri označeni temperaturi, da zagotovite ustrezno učinkovitost. V nadaljevanju je seznam komponent kompleta reagentov.

Preglednica 1 Komponente kompleta reagentov

| Komponenta                                                      | Količina   | Volumen polnjenja | Opis                                                                      | Shranjevanje*       |
|-----------------------------------------------------------------|------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 ciklov)     | Po 1       | Različno          | Reagenti za gručenje in sekvenciranje                                     | od -25 °C do -15 °C |
| NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 ciklov)                  | Po 1       | Različno          | Pufri in raztopina za pranje                                              | od 15 °C do 30 °C   |
| NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 ciklov) | Po 1       | Ni na voljo       | Steklena pretočna celica za enkratno uporabo za odčitavanje z obeh koncev | od 2 °C do 8 °C     |
| Škatla z dodatki za NextSeq 550Dx (300 ciklov)                  | 1 epruveta | 12 ml             | Pufer za redčenje knjižnic                                                | od -25 °C do -15 °C |

\*Kartuša pretočne celice NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 ciklov) se pošilja pri sobni temperaturi.

## Številke serije

Komplet reagentov ima samo eno številko serije, ki se imenuje številka serije kompleta reagentov. Vsak predelek v kompletu reagentov ima natisnjeno številko serije kompleta reagentov. Komponente kompleta reagentov, ki so v posameznih predelkih, imajo natisnjene številke serije, specifične za komponento, ki se razlikujejo od številke serije kompleta reagentov. Potrošni material za sekvenciranje hranite v škatlah, dokler ni pripravljen za uporabo, da se ohrani povezava serije kompletov. Za podrobnosti o številkah delov reagenta in številkah serij glejte Certifikat o analizi kompleta reagentov.

## Shranjevanje in rokovanje

- 1 Sobna temperatura je opredeljena kot temperatura od 15 °C do 30 °C.
- 2 Komponente kompleta reagentov so stabilne, če so shranjene pri navedenih temperaturah shranjevanja do datuma poteka veljavnosti na oznaki.
- 3 Škatla z dodatki za NextSeq 550Dx in Kartuša z reagenti NextSeq 550Dx sta stabilna za največ eno odtajanje na sobno temperaturo pred navedenim datumom izteka uporabnosti. Kartuša z reagenti je stabilna največ 6 ur, če se odtaja v vodni kopeli pri sobni temperaturi. Kartušo z reagenti lahko odtajate tudi pri temperaturi od 2 °C do 8 °C do 5 dni pred uporabo.
- 4 Spremembe fizičnega izgleda reagentov lahko kažejo na kvar materialov. Če po mešanju pride do sprememb fizičnega izgleda, kot so očitne spremembe barve reagenta ali motnost z vidno mikrobo kontaminacijo, reagentov ne uporabljajte.

## Potrebna oprema in materiali, ki se prodajajo ločeno

- Instrument NextSeq 550Dx, kataloška št. 20005715

## Opozorila in previdnostni ukrepi



**POZOR**

Zvezna zakonodaja ZDA omejuje prodajo tega pripomočka s strani ali po naročilu zdravnika, ki je licenciran po zakonodaji države, v kateri deluje, za uporabo ali naročanje uporabe pripomočka.

- 1 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklov) vsebuje potencialno nevarne kemikalije. Zaradi vdihavanja, zaužitja, stika s kožo in z očmi lahko pride do telesnih poškodb. Uporabljajte zaščitno opremo, vključno z zaščito za oči, rokavicami in laboratorijsko haljo, glede na tveganje izpostavljenosti. Uporabljene reagente obravnavajte kot kemične odpadke in jih zavrzite v skladu z veljavnimi regijskimi, nacionalnimi in lokalnimi zakoni in uredbami.
- 2 Za informacije o varovanju okolja in zdravja ter zagotavljanju varnosti glejte varnostni list (SDS) na spletnem mestu [support.illumina.com/sds.html](https://support.illumina.com/sds.html).
- 3 O resnih zapletih, povezanih s tem izdelkom, takoj poročajte družbi Illumina in pristojnim organom držav članic, v katerih prebivata uporabnik in bolnik.
- 4 Neupoštevanje opisanih postopkov lahko povzroči napačne rezultate oziroma znatno zmanjšanje kakovosti vzorca.
- 5 Uporabljajte rutinske laboratorijske previdnostne ukrepe. Ne pipetirajte z usti. Ne jejte, pijte ali kadite na določenih delovnih območjih. Pri ravnanju z vzorci in reagenti testa nosite rokavice za enkratno uporabo in laboratorijske plašče. Po ravnanju z vzorci in reagenti testa si temeljito umijte roke.
- 6 Da produkti PCR ne bi kontaminirali reagentov, instrumentov in vzorcev genomske DNK, so potrebne ustrezne laboratorijske prakse in dobra laboratorijska higiena. Kontaminacija PCR lahko povzroči netočne in nezanesljive rezultate.
- 7 Da bi preprečili kontaminacijo, zagotovite, da imajo območja pred pomnoževanjem in po pomnoževanju namensko opremo (npr. pipete, nastavke za pipete, vibracijske mešalnike in centrifugo).

## Navodila za uporabo

Glejte navodila za uporabo *instrumenta NextSeq 550Dx* in ustrezna referenčna navodila.

## Značilnosti učinkovitosti

Glejte navodila za uporabo *instrumenta NextSeq 550Dx*.

## Zgodovina revizij

| Dokument                          | Datum            | Opis spremembe                                                                                                        |
|-----------------------------------|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Dokument št.<br>1000000073349 v03 | November<br>2021 | Dodana opozorila in previdnostni ukrepi glede poročanja o resnih zapletih.<br>Dodana preglednica z zgodovino revizij. |

## Patenti in blagovne znamke

Ta dokument in vsebina v njem sta last družbe Illumina, Inc. in njenih podružnic (»Illumina«) ter sta namenjena le pogodbeno določeni uporabi njenih strank v povezavi z uporabo izdelkov, ki so opisani v tem dokumentu, in za noben drug namen. Tega dokumenta in vsebine v njem ne smete uporabljati ali distribuirati za kateri koli drug namen in/ali ju kakor koli drugače posredovati, razkriti ali razmnoževati brez predhodnega pisnega soglasja družbe Illumina. Illumina vam s tem dokumentom ne podeljuje nobene licence v okviru svojega patenta, blagovne znamke, avtorskih pravic ali pravic iz običajnega prava in nobenih podobnih pravic tretjih oseb.

Ustrezno kvalificirano in usposobljeno osebje mora natančno in dosledno upoštevati navodila v tem dokumentu, da zagotovi pravilno in varno uporabo izdelkov, opisanih v njem. Pred uporabo teh izdelkov morate v celoti prebrati vsebino tega dokumenta in se seznaniti z njo.

**ČE NE PREBERETE VSEH NAVODIL V TEM DOKUMENTU IN JIH NE UPOŠTEVATE DOSLEDNO, LAHKO POVZROČITE OKVARO IZDELKOV, TELESNE POŠKODBE OSEB, VKLJUČNO Z UPORABNIKI IN DRUGIMI OSEBAMI, TER POŠKODBE DRUGE LASTNINE IN RAZVELJAVITE KAKRŠNO KOLI JAMSTVO, KI VELJA ZA IZDELKE.**

ILLUMINA NE PREVZEMA NOBENE ODGOVORNOSTI ZA NEPRAVILNO UPORABO IZDELKOV, OPISANIH V TEM DOKUMENTU (VKLJUČNO Z NJIHOVIMI DELI IN PROGRAMSKO OPREMO).

© 2021 Illumina, Inc. Vse pravice so pridržane.

Vse blagovne znamke so last družbe Illumina, Inc. ali njihovih ustreznih lastnikov. Informacije o določenih blagovnih znamkah najdete na spletnem mestu [www.illumina.com/company/legal.html](https://www.illumina.com/company/legal.html).

## Kontaktne podatke



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 ZDA  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (zunaj Severne Amerike)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



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

### Sponzor za Avstralijo

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

## Označevanje izdelka

Za popolno referenco simbolov, ki so lahko prikazani na embalaži in označevanju izdelka, glejte razlago simbolov za vaš komplet na spletnem mestu [support.illumina.com](https://support.illumina.com).

Povzetek o varnosti in učinkovitosti (SSP) je po vzpostavitvi Evropske podatkovne zbirke za medicinske pripomočke (Eudamed) na voljo na naslovu <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>, kjer je povezan z osnovnim UDI-DI (00816270020118).