

NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles)

KUN TIL IN VITRO-DIAGNOSTIK

Katalognr. 20019554

Tilsligtet brug

Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) er et sæt reagenser og materialer beregnet til sekventering af prøvebiblioteker ved brug med validerede analyser. Sættet er beregnet til anvendelse sammen med NextSeq 550Dx-instrumentet og den tilhørende analysesoftware.

Procedureprincipper

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) er et sæt reagenser og materialer til engangsbrug i forbindelse med sekventering på NextSeq 550Dx-instrumentet. Inputtet til NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) består af biblioteker, der er genereret fra DNA, med tilføjelse af prøveindekser og registreringssekvenser til forstærkede mål. Prøvebibliotekerne fanges på en flowcelle og sekventeres på instrumentet ved brug af SBS-kemi (Sequencing By Synthesis). SBS-kemien anvender en reversibel terminator-metode til at påvise fluorescensmærkede enkelt nukleotidbaser, når de inkorporeres i voksende DNA-streng. Antallet af prøvebiblioteker afhænger af den multipleksering, der understøttes af den tidligere biblioteks klargøringsmetode.

Indlægssedlen til *NextSeq 550Dx-instrumentet* indeholder instruktioner i udførelse af sekventering på NextSeq 550Dx-instrumentet.

Ydelsesegenskaberne og procedurebegrænsningerne for NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) er fastsat ved brug af Local Run Manager for genom og somatiske variantmoduler.

Procedurens begrænsninger

- 1 Til *in vitro*-diagnostisk brug.
- 2 Læsninger med indels (indsættelser, sletninger eller kombinationer), hvor indholdslængden er > 25 basepar (bp) og ikke ikke tilpasses af prøvesoftware. Som følge heraf påviser prøvesoftwaren ikke indels med en længde > 25 bp.
- 3 Amplikonlæsninger med ekstremt indhold vil ikke nødvendigvis blive tilpasset af prøvesoftwaren, hvilket resulterer i, at området rapporteres som vildtype. Sådant ekstremt indhold omfatter:
 - ▶ Læsninger, der indeholder mere end tre indels
 - ▶ Læsninger med en længde på mindst 30 bp med indhold af enkelt nukleotidvariant (SNV) > 4 % af den totale amplikonmålslængde (eksklusive sondeområder)
 - ▶ Læsninger med en længde < 30 bp med SNV-indhold > 10 % af den totale amplikonlængde (inklusive sondeområder)
- 4 Store varianter, inklusive multinukleotid-varianter (MNV'er) og store indels, kan rapporteres som separate mindre varianter i VCF-outputfilen.
- 5 Sletningsvarianter kan filtreres eller udelukkes, hvis de spænder over to sideliggende amplikoner, og sletningslængden er over eller lig med overlappningen mellem de to amplikoner.
- 6 Systemet kan ikke påvise indels, hvis de støder direkte op til en primer, og der ikke er noget overlappende amplikon. For områder med overlappende amplikoner kan analysen ikke påvise sletninger, hvis området med overlappning er

- mindre end størrelsen på den pågældende sletning. Eksempel: Hvis området med overlapning mellem to sideliggende amplikoner er to baser, kan analysen ikke påvise nogen sletninger, inklusive begge disse baser. En enkelt basesletning på en af disse baser kan påvises.
- 7 Ligesom det gælder enhver anden hybridiseringsbaseret arbejdsgang til biblioteksklargøring, kan underliggende polymorfismer, mutationer, indsættelser eller sletninger i oligonukleotidbindende områder påvirke de alleler, der undersøges, og dermed de bestemmelser, der frembringes under sekventeringen. For eksempel:
 - ▶ En variant i fase med en variant i primer-området forstærkes muligvis ikke, hvilket resulterer i en falsk negativ.
 - ▶ Varianter i primer-området kan forhindre forstærkning af referenceallelen og en deraf følgende ukorrekt bestemmelse af homozygot-variant.
 - ▶ Indel-varianter i primer-området kan forårsage et falsk positivt resultat ved enden af læsningen, der støder op til primeren.
 - 8 Indels kan frasorteres på grund af streng-påvirkning, hvis de forekommer nær enden af en læsning, og er blevet blødt afkortet i forbindelse med tilpasning.
 - 9 Små MNV'er er ikke blevet valideret, og rapporteres kun i somatisk variantmodulet.
 - 10 Sletninger rapporteres i VCF på koordinatet for den foregående base efter VCF-format. Derfor bør tilstødende varianter tages i betragtning, inden det rapporteres, at en individuel basebestemmelse er homozygotisk reference.
 - 11 Kimbanespecifikke begrænsninger:
 - ▶ NextSeq 550Dx-instrumentet er designet til at levere kvalitative resultater vedrørende bestemmelse af kimbanevarianter (f.eks. homozygot, heterozygot, vildtype) ved brug af kimbanevariantmodulet for NextSeq 550Dx i Local Run Manager.
 - ▶ Brug af kimbanevariantmodulet kræver en minimal dækning pr. amplikon på 150x for at opnå nøjagtig variantbestemmelse. Som følge heraf kræves 150 understøttende DNA-fragmenter, hvilket svarer til 300 overlappende læsninger med parrede afslutninger. Antallet af prøver og det samlede antal målrettede baser påvirker dækningen. CG-indholdet og andet genomindhold kan påvirke dækningen.
 - ▶ Variation af kopianstal kan påvirke, hvorvidt en variant identificeres som homozygot eller heterozygot.
 - ▶ Varianter i bestemt repetitiv kontekst filtreres fra i VCF-filerne. RMxN-gentagelsesfilteret anvendes til at frasortere varianter, hvis hele eller dele af variantsekvensen er til stede gentagne gange i referencegenomet, der støder op til variantpositionen. Hvad angår bestemmelsen af kimbanevarianter, skal der være mindst ni gentagelser i referencen, før varianten filtreres, og kun gentagelser med en længde op til 5 bp tages i betragtning (R5x9).
 - ▶ En indel og en SNV ved en enkelt locus kan resultere i, at der kun rapporteres én variant.
 - 12 Somatisk-specifikke begrænsninger:
 - ▶ NextSeq 550Dx-instrumentet er designet til at levere kvalitative resultater vedrørende somatisk variantbestemmelse (f.eks. forekomst af en somatisk variant med en variantfrekvens $\geq 0,026$ med en detektionsgrænse på 0,05) ved brug af somatisk variantmodul i Local Run Manager til NextSeq 550Dx.
 - ▶ Ved brug af det somatiske variantmodul kræves en minimal dækning pr. amplikon på 450x pr. oligonukleotidpulje for at opnå nøjagtig variantbestemmelse. Som følge heraf kræves 450 understøttende DNA-fragmenter pr. oligonukleotidpulje, hvilket svarer til 900 overlappende læsninger med parret afslutning. Antallet af prøver og det samlede antal målrettede baser påvirker dækningen. CG-indholdet og andet genomindhold kan påvirke dækningen.
 - ▶ Hvad angår somatisk variantbestemmelse, skal der være mindst 6 gentagelser i referencen, før varianten filtreres, og kun gentagelser med en længde op til 3 bp tages i betragtning (R3x6).
 - ▶ Det somatiske variantmodul kan ikke differentiere mellem kimbanevarianter og somatiske varianter. Modulet er designet til at påvise varianter på tværs af en række variantfrekvenser, men variantfrekvensen kan ikke anvendes til at differentiere somatiske varianter fra kimbanevarianter.
 - ▶ Normalvæv i prøven påvirker påvisningen af varianter. Den rapporterede detektionsgrænse er baseret på en variantfrekvens i forhold til det totale DNA, der er ekstraheret fra både tumor- og normalvæv.

Komponenterne i reagenssættet

Alle dele i NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) leveres i separate æsker. Sæt omgående delene til opbevaring ved de anviste temperaturer, for at sikre korrekt ydelse. Komponenterne i reagenssættet fremgår af nedenstående liste.

Tabel 1 Komponenter i reagenssættet

Komponent	Antal	Fyldningsvolumen	Beskrivelse	Opbevaring
NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 Cycles)	1 hver	Diverse	Klynge- og sekventeringsreagenser	-25 °C til -15 °C
NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 Cycles)	1 hver	Diverse	Buffere og vaskeopløsning	15°C til 30°C
NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2 (300 Cycles)	1 hver	I/T	Engangsbrug, parret afslutning, glasflowcelle	2 °C til 8 °C
NextSeq 550Dx Accessory Box (300 Cycles)	1 tube	12 ml	Biblioteksfortyndingsbuffer	-25°C til -15°C

Partinumre

Reagenssættet har et enkelt partinummer, som kaldes reagenssættets partinummer. Reagenssættets partinummer er trykt på alle æskerne i reagenssættet. Komponenterne i reagenssættet, som ligger i æskerne, er påtrykt delspecifikke partinumre, som ikke er de samme som reagenssættets partinummer. Opbevar sekventeringsmateriale i de originale æsker, indtil de skal bruges, for at bevare sætpartiforbindelsen.

Se yderligere oplysninger om reagensernes delnumre og partinumre i reagenssættets analysecertifikat.

Opbevaring og håndtering

- Rumtemperatur er defineret som 15 °C til 30 °C.
- Komponenterne i reagenssættet transporteres ved kontrolleret temperatur, og er stabile indtil udløbsdatoen på etiketten, hvis de opbevares ved de anviste temperaturer.
- NextSeq 550Dx Accessory Box og NextSeq 550Dx-reagenskassetten er stabil ved én optøning ved rumtemperatur inden den angivne udløbsdato. Reagenskassetten er stabil i op til 6 timer ved optøning i vandbad ved rumtemperatur. Alternativt kan reagenskassetten optøes ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage inden brug.
- Ændringer i reagensernes udseende kan være tegn på nedbrydning af materialerne. Reagenserne må ikke anvendes, hvis de ændrer udseende efter blanding, f.eks. markant farveændring eller uklarhed, der kan tyde på mikrobiel kontaminering.

Påkrævet udstyr og materialer, sælges separat

- ▶ NextSeq 550Dx-instrument, katalognr. 20005715

Advarsler og forsigtighedsregler



FORSIGTIG

I henhold til amerikansk forbundslov må dette udstyr kun sælges på recept af en læge eller anden behandler, med lovlig statsautorisation til anvendelse eller ordineret anvendelse af udstyret i den stat, hvor han/hun praktiserer.

- NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) indeholder potentielt farlige kemikalier. Indånding, indtagelse, hudkontakt og øjenkontakt kan resultere i personskader. Anvend beskyttelsesudstyr, herunder briller, handsker og laboratoriekittel, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod eksponeringsfaren. Anvendte reagenser skal håndteres som kemisk affald og bortskaffes i overensstemmelse med gældende nationale love og forordninger.

- 2 Du kan finde yderligere miljø-, sundheds- og sikkerhedsrelaterede oplysninger i sikkerhedsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.
- 3 Manglende overholdelse af de beskrevne fremgangsmåder kan resultere i fejlagtige resultater eller betydeligt nedsat prøve kvalitet.
- 4 Overhold laboratoriets rutinemæssige forholdsregler. Må ikke pipetteres med munden. Der må ikke indtages mad og drikke eller ryges i arbejdsområderne. Anvend engangshandsker og laboratoriekittel i forbindelse med håndtering af prøver og analysereagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og analysereagenser.
- 5 Der skal anvendes korrekt laboratoriepraksis og god laboratoriehygiejne for at forhindre, at PCR-produkterne kontaminerer reagenser, instrumenter og genomiske DNA-prøver. PCR-kontaminering kan forårsage unøjagtige og upålidelige resultater.
- 6 For at forhindre kontaminering skal det sikres, at de områder, der anvendes før og efter forstærkningen, har udstyr, der er beregnet til formålet (f.eks. pipetter, pipettespidser, vortex-blandere og centrifuger).

Brugervejledning

Se indlægssedlen til *NextSeq 550Dx-instrumentet* samt relevante oversigtsvejledninger.

Ydelsesegenskaber

Se indlægssedlen til *NextSeq 550Dx-instrumentet*.

Patenter og varemærker

Dette dokument og dets indhold er ophavsretligt beskyttet af Illumina, Inc. og dets datterselskaber ("Illumina") og er udelukkende beregnet til kundens kontraktmæssige brug i forbindelse med anvendelsen af det produkt eller de produkter, som er beskrevet heri, og til intet andet formål. Dette dokument og dets indhold må ikke bruges eller distribueres til noget andet formål og/eller på anden måde kommunikerer, offentliggøres eller reproduceres på nogen som helst måde uden forudgående skriftligt samtykke fra Illumina. Med dette dokument udsteder Illumina ingen licens under sit patent, varemærke, sin copyright eller sædvaneret eller lignende rettigheder for nogen tredjeparter.

Instruktionerne i dette dokument skal følges nøje og fuldstændigt af kvalificerede og behørigt uddannede medarbejdere for at sikre, at det produkt eller de produkter, der er beskrevet heri, anvendes korrekt og sikkert. Alt indhold i dette dokument skal læses grundigt og forstås inden brug af produktet/produkterne.

HVIS ALLE INSTRUKTIONERNE HERI IKKE GENNEMLÆSES FULDT UD OG FØLGES NØJE, KAN DET MEDFØRE SKADE PÅ PRODUKTET ELLER PRODUKTERNE, SKADE PÅ PERSONER, HERUNDER BRUGERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANDEN EJENDOM OG VIL GØRE ENHVER GARANTI GÆLDENDE FOR PRODUKTET ELLER PRODUKTERNE UGYLDIG.

ILLUMINA PÅTAGER SIG INTET ANSVAR SOM FØLGE AF FORKERT BRUG AF DET PRODUKT ELLER DE PRODUKTER, DER ER BESKREVET HERI (HERUNDER DELE HERAF ELLER SOFTWARE).

© 2020 Illumina, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

Alle varemærker tilhører Illumina, Inc. eller de respektive ejere. Specifikke varemærkeoplysninger er tilgængelige på www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktoplysninger



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (uden for Nordamerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE Eindhoven
Holland

Australsk sponsor

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

Produktmærkning

Se forklaringer på de symboler, der fremgår af produktemballagen og -mærkningen, i symbolnøglen på support.illumina.com under fanen *Documentation and Literature* (Dokumentation og litteratur) for dit sæt.