

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

TIL IN VITRO-DIAGNOSTISK BRUK

Katalognr. 20019554

Tiltenkt bruk

Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 sykluser) er et sett med reagenser og forbruksvarer beregnet for sekvensering av prøvebiblioteker når de brukes sammen med validerte analyser. Settet er beregnet for bruk med NextSeq 550Dx-instrumentet og analytisk programvare.

Prosedyreprinsipper

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 sykluser) er et sett med reagenser og forbruksmateriell til engangsbruk som skal brukes til sekvensering på NextSeq 550Dx-instrumentet. For inndata bruker NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 sykluser) biblioteker generert fra DNA der prøveindekser og innfangingssekvenser blir lagt til forsterkede mål. Prøvebiblioteker blir fanget på en strømningscelle og sekvensert på instrumentet ved bruk av sekvensering ved syntesekjemi (SBS). SBS-kjemi bruker en reversibel terminatormetode for å detektere fluorescentmerkede enkle nukleotidbaser idet de blir inkorporert i voksende DNA-strenger. Antallet prøvebiblioteker er avhengig av multipleksingen som støttes av oppstrøms biblioteksklargjøringsmetode.

Pakningsvedlegget for *NextSeq 550Dx-instrumentet* inneholder instruksjoner for å utføre sekvensering på NextSeq 550Dx-instrumentet.

Ytelseskaraktistikker og begrensninger for prosedyren for NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 sykluser) ble etablert ved å bruke Local Run Manager-modulen for Germline og Somatic Variant.

Prosedyremessige begrensninger

- 1 Til *in vitro*-diagnostisk bruk.
- 2 Avlesninger med indeler (innsetninger, slettinger eller kombinasjoner) der innholdslengden er >25 basepar (bp), er ikke innrettet av analyseprogrammet. Indeler med lengde > 25 bp kan derfor ikke detekteres av analyseprogrammet.
- 3 PCR-produktavlesninger med ekstremt innhold kan kanskje ikke innrettes av analyseprogrammet, noe som resulterer i at regionen blir rapportert som villtype. Slikt ekstremt innhold omfatter:
 - ▶ Avlesninger som inneholder mer enn tre indeler
 - ▶ Avlesninger med lengde på minst 30 bp med enkel nukleotidvariant (SNV)-innhold på >4 % av den totale PCR-produktmållengden (unntatt probeområder)
 - ▶ Avlesninger med lengde < 30 bp med SNV-innhold > 10 % av den totale PCR-produktlengden (inkludert probeområder)
- 4 Store varianter, deriblant multi-nukleotidvarianter (MNV-er) og store indeler, kan rapporteres som separate mindre varianter i utdata-VCF-filen.
- 5 Slettingsvarianter kan filtreres eller utelates når de spenner over to sidestilte PCR-produkter, dersom slettelengden er større enn eller lik overlappingen mellom de sidestilte PCR-produktene.
- 6 Systemet kan ikke oppdage indeler hvis de oppstår rett ved siden av en primer og det ikke er noe overlappende PCR-produkt. For regioner med overlappende PCR-produkter kan ikke analysen oppdage slettinger når

- overlappingsområdet er mindre enn størrelsen på slettingen som skal detekteres. Hvis for eksempel overlappingsområdet mellom to tilstøtende PCR-produkter er to baser, kan analysen ikke oppdage noen slettinger som inkluderer begge disse basene. En enkelt basesletting på én av disse basene kan detekteres.
- 7 Som ved alle hybridiseringsbaserte arbeidsprosesser for bibliotekklargjøring kan underliggende polymorfismer eller mutasjoner, innsettinger eller slettinger i oligonukleotidbindende områder påvirke allelene som sonderes, og derfor også betegnelsene som utføres under sekvensering. Eksempel:
 - ▶ En variant i fase med en variant i primerregionen kan ikke forsterkes, noe som resulterer i en falskt negativ betegnelse.
 - ▶ Varianter i primerområdet kan forhindre forsterkningen av referanseallelen, noe som resulterer i feil homozygot variantbetegnelse.
 - ▶ Indelvarianter i primerregionen kan forårsake en falskt positiv betegnelse på slutten av avlesingen ved siden av primeren.
 - 8 Indeler kan filtreres på grunn av strengeavvik hvis de forekommer nær enden av en avlesning og blir «soft-clipped» under innretting.
 - 9 Små MNV-er har ikke blitt validert og rapporteres kun i den somatiske variantmodulen.
 - 10 Slettinger rapporteres i VCF ved koordinaten til den foregående basen etter VCF-format; derfor bør det vurderes tilstøtende varianter før rapportering om at en individuell basebetegnelse er homozygot referanse.
 - 11 Kimbanespesifikke begrensninger:
 - ▶ NextSeq 550Dx-instrumentet som bruker Local Run Manager Germline-variantmodulen for NextSeq 550Dx, er utviklet for å levere kvalitative resultater for germline-variantbetegnelser (f.eks. homozygot, heterozygot, villtype).
 - ▶ Ved bruk med Germline-variantmodulen er minimum dekning per PCR-produkt som er nødvendig for nøyaktig variantbetegnelse, 150x. Dermed kreves 150 støttende DNA-fragmenter, noe som tilsvarer 300 overlappende paired-end-avlesinger. Antallet prøver og det totale antallet baser som er målrettet, påvirker dekningen. GC-innhold og annet genomisk innhold kan påvirke dekning.
 - ▶ Variasjon i kopinummer kan påvirke om en variant identifiseres som homozygot eller heterozygot.
 - ▶ Varianter i en viss repetitiv kontekst filtreres ut i VCF-filene. RMxN-gjentakelsesfilteret brukes til å filtrere varianter dersom hele eller deler av variantsekvensen er til stede gjentatte ganger i referansegenomet ved siden av variantposisjonen. For germline-variantbetegnelse er det nødvendig med minst 9 repetisjoner i referansen for at en variant skal filtreres, og bare gjentagelser med lengde på opptil 5 bp vurderes (R5x9).
 - ▶ En indel og en SNV ved en enkelt lokus kan føre til at kun én variant blir rapportert.
 - 12 Somatisk-spesifikke begrensninger:
 - ▶ NextSeq 550Dx-systemet som bruker Local Run Manager somatisk variantmodul for NextSeq 550Dx, er designet for å levere kvalitative resultater for somatisk variantbetegnelse (f.eks. tilstedeværelse av en somatisk variant med en variantfrekvens $\geq 0,026$ med en deteksjonsgrense på 0,05).
 - ▶ Ved bruk med Somatic Variant-modulen er minimum dekning per PCR-produkt som er nødvendig for nøyaktig variantbetegnelse, 450x per oligonukleotidsammenslåing. Dermed kreves 450 støttende DNA-fragmenter per oligonukleotidsammenslåing, noe som tilsvarer 900 overlappende paired-end-avlesinger. Antallet prøver og det totale antallet baser som er målrettet, påvirker dekningen. GC-innhold og annet genomisk innhold kan påvirke dekning.
 - ▶ For somatisk variantbetegnelse er det nødvendig med minst 6 repetisjoner i referansen for at varianten skal filtreres, og bare gjentagelser med lengde på opptil 3 bp vurderes (R3x6).
 - ▶ Den somatiske variantmodulen kan ikke skille mellom germline-varianter og somatiske varianter. Modulen er konstruert for å detektere varianter over en rekke variantfrekvenser, men variantfrekvens kan ikke brukes til å skille mellom somatiske varianter og kimlinjevarianter.
 - ▶ Normalt vev i prøven påvirker deteksjonen av varianter. Den rapporterte deteksjonsgrensen er basert på en variantfrekvens relativ til det totale DNA-et som ekstraheres fra både tumor og normalt vev.

Komponenter i reagenssettet

Hver komponent i NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 sykluser) leveres i en egen eske. Komponentene må settes til oppbevaring ved angitt temperatur for å sikre riktig ytelse. Nedenfor er det angitt en liste over komponenter i reagenssettet.

Tabell 1 Komponenter i reagenssettet

Komponent	Kvantitet	Fyllingsvolum	Beskrivelse	Oppbevaring
NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 sykluser)	1 hver	Diverse	Klynge- og sekvenseringsreagenser	-25 °C til -15 °C
NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 sykluser)	1 hver	Diverse	Buffere og vaskeløsning	15 °C til 30 °C
NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2 (300 sykluser)	1 hver	N/A	Engangsbruk, paired-end, glasstrømningscelle	2 °C til 8 °C
NextSeq 550Dx Accessory Box (300 sykluser)	1 rør	12 ml	Bibliotekfortynningsbuffer	-25 °C til -15 °C

Partinumre

Reagenssettet har et enkelt partinummer som refereres til som reagenssettets partinummer. Hver eske i reagenssettet har påtrykt reagenssettets partinummer. Komponenter i reagenssettet som er inni eskene har påtrykt komponentspesifikke partinumre som er ulike fra reagenssettets partinummer. Sekvenseringsmaterieell skal oppbevares i eskene til de er klare for bruk, for å opprettholde tilknytningen til settets parti. Se analysesertifikatet til reagenssettet for mer informasjon om reagensets delenumre og partinumre.

Oppbevaring og håndtering

- Romtemperatur defineres som 15 °C til 30 °C.
- Komponentene i reagenssettet leveres med temperaturkontroll og er stabile når de oppbevares i henhold til de angitte oppbevaringstemperaturene frem til utløpsdatoen på etiketten.
- NextSeq 550Dx-tilbehørsesken og NextSeq 550Dx-reagenskassetten er stabile i maks én tinesyklus til romtemperatur før angitt utløpsdato. Reagenskassetten er stabil i opptil 6 timer når den tines i et romtemperert vannbad. Alternativt kan reagenskassetten tines ved 2 °C til 8 °C i opptil 5 dager før bruk.
- Endringer i reagensenes fysiske utseende kan indikere nedbryting av materialene. Hvis det forekommer endringer i det fysiske utseendet etter blanding, for eksempel åpenbare endringer i reagensfarge eller uklarhet sammen med mikrobiell kontaminasjon, skal ikke reagensene brukes.

Nødvendig utstyr og materialer selges separat

- ▶ NextSeq 550Dx-instrument, katalognr. 20005715

Advarsler og forholdsregler



FORSIKTIG

Føderal lov begrenser denne enheten til salg av, eller på bestilling av, en lege eller annet fagpersonell, lovmessig lisensiert i staten vedkommende praktiserer, for å bruke eller pålegge bruk av enheten.

- NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 sykluser) inneholder potensielt farlige kjemikalier. Personskade kan forekomme ved innånding, svelging, hudkontakt og øyekontakt. Bruk verneutstyr, inkludert vernebriller, hansker og laboratoriefrakk som er egnet ved risiko for eksponering. Brukte reagenser skal behandles som kjemisk avfall og kastes i samsvar med gjeldende regionale, nasjonale og lokale lover og forskrifter.
- Hvis du ønsker ytterligere informasjon om helse, miljø og sikkerhet, kan du se sikkerhetsdatabladet (SDS) på support.illumina.com/sds.html.
- Hvis du unnlater å følge prosedyrene som beskrevet, kan det resultere i feil resultater eller betydelig reduksjon i prøve kvaliteten.
- Bruk rutinemessige forholdsregler for laboratoriet. Ikke pipetter med munnen. Ikke spis, drikk eller røyk i tilordnede arbeidsområder. Bruk engangshansker og laboratoriefrakker når du håndterer prøver og analysereagenser. Vask hendene grundig etter å ha håndtert prøvene og analysereagensene.

- 5 God laboratoriepraksis og god laboratoriehygiene er påkrevd for å hindre at PCR-produkter kontaminerer reagenser, instrumentering og genomiske DNA-prøver. PCR-kontaminasjon kan medføre unøyaktige og upålitelige resultater.
- 6 For å hindre kontaminasjon må du påse at preforsterknings- og postforsterkningsområdene har sitt eget utstyr (som dråpetellere, dråpetellerspisser, roterer og sentrifuge).

Bruksanvisning

Se pakningsvedlegget for *NextSeq 550Dx-instrumentet* og aktuelle referanseveiledninger.

Ytelseskarakteristikker

Se pakningsvedlegget for *NextSeq 550Dx-instrumentet*.

Patenter og varemerker

Dette dokumentet og dets innhold er opphavsrettslig beskyttet for Illumina, Inc. og tilknyttede selskaper («Illumina»), og er ment utelukkende for kontraktbruk av kunden i forbindelse med bruk av produktet (produktene) beskrevet her, og for intet annet formål. Dette dokumentet og dets innhold skal ikke brukes eller distribueres til andre formål og/eller på annen måte kommuniseres, fremlegges eller reproduseres på noen måte uten forutgående, skriftlig samtykke fra Illumina. Illumina overfører ikke noen lisens under sitt patent, varemerke, opphavsrett eller sedvanerett eller lignende rettigheter til tredjeparter gjennom dette dokumentet.

Instruksjonene i dette dokumentet skal følges strengt og tydelig av kvalifisert og tilfredsstillende utdannet personell for å sikre riktig og sikker bruk av produktet (produktene) som er beskrevet i dette dokumentet. Alt innhold i dette dokumentet skal leses fullt ut og være forstått før produktet (produktene) brukes.

HVIS DET UNNLATES Å LESE FULLSTENDIG OG UTTRYKkelig FØLGE ALLE INSTRUKSJONENE I DETTE DOKUMENTET, KAN DET FØRE TIL SKADE PÅ PRODUKTET (PRODUKTENE), SKADE PÅ PERSONER, INKLUDERT BRUKERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANNEN EIENDOM, OG DETTE VIL UGYLDIGGJØRE EVENTUELL GARANTI SOM GJELDER FOR PRODUKTET (PRODUKTENE).

ILLUMINA PÅTAR SEG IKKE ANSVAR SOM FØLGE AV FEIL BRUK AV PRODUKTET (PRODUKTENE) SOM ER BESKREVET I DETTE DOKUMENTET (INKLUDERT DELER AV DETTE ELLER PROGRAMVARE).

© 2020 Illumina, Inc. Med enerett.

Alle varemerker tilhører Illumina, Inc. eller deres respektive eiere. Ytterligere informasjon om varemerker finner du på www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktinformasjon



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California, 92122 USA
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (utenfor Nord-Amerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Australsk sponsor

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

Produktmerking

Ønsker du en fullstendig oversikt over symboler som kan finnes på produktemballasjen og -merkingen, kan du gå til support.illumina.com og lese under fanen *Documentation and Literature* (Dokumentasjon og litteratur) for settet.