

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

ZA IN VITRO DIJAGNOSTIKU

Kataloški broj 20019554

Namjena

Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) komplet je reagensa i potrošnog materijala namijenjenih sekvenciranju biblioteka uzoraka za upotrebu s odobrenim analizama. Komplet je namijenjen upotrebi s instrumentom i analitičkim softverom NextSeq 550Dx.

Principi postupka

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) komplet je reagensa i potrošnog materijala za jednokratnu upotrebu namijenjen sekvenciranju na instrumentu NextSeq 550Dx. NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) kao ulaz upotrebljava biblioteke generirane iz DNA kod kojih se amplificiranim ciljnim vrijednostima dodaju indeksi uzorka i prikupljene sekvence. Biblioteke uzoraka izrađuju se na protočnoj jedinici i sekvenciraju na instrumentu pomoću kemijskog postupka sekvenciranja sintezom (SBS). Kemijski postupak SBS upotrebljava metodu reverzibilnog terminatora za otkrivanje fluorescentno označenih baza s jednim nukleotidom dok se oni umeću u rastuće DNA lance. Broj biblioteka uzoraka ovisi o multipleksiranju koje podržava prethodno korištena metoda pripreme biblioteka.

Informativni pregled za *instrument NextSeq 550Dx* donosi upute za izvođenje sekvenciranja na instrumentu NextSeq 550Dx.

Karakteristike radnih svojstava ograničenja postupka za komplet reagensa NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) utemeljeni su upotrebom modula za varijante linija spolnih stanica i somatskih varijanti za softver Local Run Manager.

Ograničenja postupka

- 1 Za *in vitro* dijagnostiku.
- 2 Čitanja s „indelima“ (inercijama/delecijama, tj. umetanjima, brisanjima ili kombiniranjima) kod kojih je duljina sadržaja > 25 parova baza (base pairs, bp) nisu kalibrirana u softveru za analizu. Sukladno tome, softver za analizu ne može prepoznati indele duljine > 25 bp.
- 3 Moguće je da čitanja amplikona ekstremnog sadržaja nisu kalibrirana u softveru za analizu, što znači da će ta područja biti prepoznata kao područja divljeg tipa. Među takve ekstremne sadržaje pripada sljedeće:
 - ▶ čitanja koja obuhvaćaju više od tri indela
 - ▶ čitanja duljine najmanje 30 bp sa sadržajem s jednom varijantom nukleotida (SNV) > 4 % ukupne ciljne duljine amplikona (bez probnih područja)
 - ▶ čitanja duljine < 30 bp sa SNV sadržajem > 10 % ukupne duljine amplikona (uključujući probna područja)
- 4 Možda će velike varijante, uključujući višenukleotidne varijante (MNV-ove) i velike indele, u izlaznoj VCF datoteci biti prepoznate kao zasebne manje varijante.
- 5 Delecijske varijante mogu se filtrirati ili preskočiti kad se protežu kroz dva popločana amplikona ako je duljina brisanja veća od preklapanja između popločanih amplikona ili jednaka njemu.

- 6 Sustav ne može prepoznati indele ako se pojave izravno uz primer, a nema preklapajućeg amplikona. U područjima s amplikonima koji se preklapaju analiza ne može prepoznati brisanja kad je područje preklapanja manje od veličine brisanja koje treba prepoznati. Primjerice, ako područje preklapanja između dvaju susjednih amplikona čine dvije baze, analiza ne može prepoznati nijedno brisanje koje uključuje obje te baze. Brisanje sa samo jednom bazom na mjestu bilo koje od tih baza može se prepoznati.
- 7 Kao kod svakog tijeka rada pripreme biblioteke temeljene na hibridizaciji, postojeći polimorfizmi, mutacije, umetanja ili brisanja u područjima vezanja oligonukleotida mogu utjecati na testirane alele i, sukladno tome, odluke koje se donose tijekom sekvenciranja. Na primjer:
 - ▶ Varijanta u fazi s varijantom u području primera možda neće biti amplificirana, što će uzrokovati lažno negativan rezultat.
 - ▶ Varijante u području primera mogu spriječiti amplifikaciju referentne alele, što će uzrokovati netočno prepoznavanje homozigotne varijante.
 - ▶ Varijante indela u području primera mogu na kraju čitanja neposredno uz primer uzrokovati lažno pozitivno prepoznavanje.
- 8 Indeli se mogu filtrirati zahvaljujući pristranosti niza ako se pojave pri kraju jednog čitanja i softverski se „odrežu“ tijekom kalibracije.
- 9 Valjanost očitavanja kod malih MNV-ova nije provjerena i oni se prepoznaju samo u modulu somatske varijante.
- 10 Brisanja se prepoznaju u VCF-u na koordinatama prethodne baze u skladu s formatom VCF; stoga prije prepoznavanja pojedinačne baze kao homozigotne reference provjerite susjedne varijante.
- 11 Ograničenja specifična za linije spolnih stanica:
 - ▶ Kombinacija instrumenta NextSeq 550Dx i modula Local Run Manager Germline Variant Module for NextSeq 550Dx namijenjena je dohvaćanju kvalitativnih rezultata za raspoznavanje varijanti linija spolnih stanica (npr. homozigotne, heterozigotne, divljeg tipa).
 - ▶ Kad se upotrebljava s modulom Germline Variant Module, minimalna pokrivenost po amplikonu potrebna za točno prepoznavanje varijante iznosi 150x. Stoga je potrebno 150 potpornih DNA fragmenata, što odgovara broji od 300 čitanja s uparenim krajevima koja se preklapaju. Broj uzoraka i ukupan broj ciljanih baza utječu na pokrivenost. GC sadržaji i drugi genomske sadržaji mogu utjecati na pokrivenost.
 - ▶ Varijacija broja kopija može utjecati na to prepoznaje li se varijanta kao homozigotna ili heterozigotna.
 - ▶ Varijante u određenom repetitivnom kontekstu filtriraju se u VCF datotekama. Filtar za ponavljanja RMxN upotrebljava se za filtriranje varijanti ako se cijela sekvenca varijante ili njen dio ponavljaju u referentnom genomu uz položaj varijante. Kod raspoznavanja varijanti linija spolnih stanica nužna su barem devet ponavljanja u referenci da bi se varijanta filtrirala te se pritom uzimaju u obzir samo ponavljanja dužine do 5 bp (R5x9).
 - ▶ Indel i SNV na jednom lokusu mogu uzrokovati prepoznavanje samo jedne varijante.
- 12 Ograničenja specifična za somatske stanice:
 - ▶ Kombinacija instrumenta NextSeq 550Dx i modula Local Run Manager Somatic Variant Module for NextSeq 550Dx namijenjena je dohvaćanju kvalitativnih rezultata za raspoznavanje somatskih varijanti (npr. prisutnost neke somatske varijante s frekvencijom varijante $\geq 0,026$ uz ograničenje prepoznavanja od 0,05).
 - ▶ Kad se upotrebljava s modulom Somatic Variant Module, minimalna pokrivenost po amplikonu potrebna za točno prepoznavanje varijante iznosi 450x po skupini oligonukleotida. Stoga je potrebno 450 potpornih DNA fragmenata po skupini oligonukleotida, što odgovara broji od 900 čitanja s uparenim krajevima koja se preklapaju. Broj uzoraka i ukupan broj ciljanih baza utječu na pokrivenost. GC sadržaji i drugi genomske sadržaji mogu utjecati na pokrivenost.
 - ▶ Kod raspoznavanja somatskih varijanti nužna je barem šest ponavljanja u referenci da bi se varijanta filtrirala te se pritom uzimaju u obzir samo ponavljanja dužine do 3 bp (R3x6).
 - ▶ Somatic Variant Module ne razlikuje varijante linija spolnih stanica od somatskih varijanti. Modul je namijenjen prepoznavanju varijanti u rasponu učestalosti varijanti, ali se učestalost varijanti ne može upotrebljavati za razlikovanje somatskih varijanti od varijanti linija spolnih stanica.
 - ▶ Normalno tkivo u uzorku utječe na prepoznavanje varijanti. Otkriveno ograničenje prepoznavanja temelji se na učestalosti varijante u odnosu na ukupnu DNA izdvojenu iz tumora i normalnog tkiva.

Komponente kompleta reagensa

Svaka komponenta kompleta NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) dolazi u zasebnoj kutiji. Odmah uskladištite komponente na navedenoj temperaturi kako biste osigurali ispravna radna svojstva. U nastavku je naveden popis komponenata kompleta reagensa.

Tbl. 1 Komponente kompleta reagensa

Komponenta	Količina	Volumen ispunje	Opis	Skladištenje
NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 cycles)	1 po komadu	Razno	Reagensi za klasteriranje i sekvenciranje	od -25 °C do -15 °C
NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 cycles)	1 po komadu	Razno	Puferi i otopina za ispiranje	od 15 °C do 30 °C
NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2 (300 cycles)	1 po komadu	Nije primjenjivo	Staklena protočna jedinica s uparenim krajevima za jednokratnu upotrebu	od 2 °C do 8 °C
Kutija za dodatnu opremu NextSeq 550Dx (300 ciklusa)	1 epruveta	12 ml	Pufer za razrjeđivanje biblioteke	od -25 °C do -15 °C

Serijski brojevi

Komplet reagensa ima jedan serijski broj koji se naziva serijskim brojem kompleta reagensa. Na svakoj kutiji u kompletu reagensa otisnut je serijski broj kompleta reagensa. Komponente kompleta reagensa koje se nalaze u kutijama označene su serijskim brojevima specifičnim za komponentu, koji se razlikuju od serijskog broja kompleta reagensa. Držite potrošni materijal za sekvenciranje u pripadajućim kutijama do trenutka upotrebe da biste znali kojoj seriji kompleta pripada. Pojednosti o brojevima dijelova i serijskim brojevima pojedinih reagensa potražite u certifikatu analize kompleta reagensa.

Skladištenje i rukovanje

- 1 Sobna temperatura definirana je kao temperatura od 15 °C do 30 °C.
- 2 Komponente kompleta reagensa otpremaju se s kontrolom temperature i stabilne su kad se skladište na navedenim temperaturama skladištenja do datuma isteka valjanosti na naljepnici.
- 3 Proizvodi NextSeq 550Dx Accessory Box i NextSeq 550Dx Reagent Cartridge stabilni su do maksimalno jednog odmrzavanja na sobnu temperaturu prije navedenog datuma isteka valjanosti. Spremnik reagensa stabilan je do 6 sati nakon odmrzavanja u vodenoj kupki sobne temperature. Moguće je spremnik reagensa odmrznuti i na temperaturu od 2 °C do 8 °C do 5 dana prije upotrebe
- 4 Promjene u fizičkom izgledu reagensa mogu upućivati na oštećenje materijala. Ako se nakon miješanja primijete promjene u fizičkom izgledu, poput očitih promjena boje reagensa ili vidljive zamućenosti uz kontaminaciju mikrobima, reagense nemojte upotrebljavati.

Obavezna oprema i materijal, prodaju se zasebno

- ▶ Instrument NextSeq 550Dx, kataloški broj 20005715

Upozorenja i mjere opreza



OPREZ

Savezni zakon propisuje da ovaj proizvod mogu prodavati samo liječnici ili drugi stručnjaci koje je licencirala država u kojoj oni djeluju te da se proizvod može prodavati samo na njihov recept za upotrebu ili propisanu upotrebu proizvoda.

- 1 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2 (300 Cycles) sadrži potencijalno opasne kemikalije. Uslijed udisanja, gutanja, dodira s kožom i dodira s očima može doći do ozljeda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijsku kutu prikladnu za rizik od izlaganja. Iskorištenim reagensima rukujte kao kemijskim otpadom i zbrinite ih u skladu odgovarajućim regionalnim, nacionalnim i mjesnim zakonima i propisima.
- 2 Informacije o zaštiti okoliša, zdravlju i sigurnosti potražite u sigurnosno-tehničkom listu (SDS-u) na web-mjestu support.illumina.com/sds.html.
- 3 Ako se ne slijede navedeni postupci, mogući su pogrešni rezultati ili značajno smanjenje kvalitete uzorka.
- 4 Primjenjujte uobičajene laboratorijske mjere opreza. Ne pipetirajte ustima. Nemojte jesti, piti ni pušiti u prostorima namijenjenim radu. Prilikom rukovanja uzorcima i reagensima za analize nosite jednokratne rukavice i laboratorijske kute. Nakon rukovanja uzorcima i reagensima za analize temeljito operite ruke.
- 5 Obavezno je slijeđenje ispravnih praksi i dobre higijene u laboratorijima da bi se spriječila kontaminacija reagensa, instrumentacije i genomski uzoraka DNA PCR proizvodima. Kontaminacija PCR proizvodima može uzrokovati netočne i nepouzdana rezultate.
- 6 Da biste spriječili kontaminaciju, pobrinite se da imate posebnu opremu (npr. pipete, vrhove pipeta, vrtložnu miješalicu i centrifugu) za područja prije amplifikacije i nakon amplifikacije.

Upute za upotrebu

Pogledajte informativni pregled za *instrument NextSeq 550Dx* i primjenjive referentne priručnike.

Karakteristike radnih svojstava

Pogledajte informativni pregled za *instrument NextSeq 550Dx*.

Patenti i žigovi

Ovaj dokument i njegov sadržaj vlasništvo su tvrtke Illumina, Inc. i njezinih povezanih društava („Illumina“) te su namijenjeni isključivo za ugovornu upotrebu klijentima u vezi s proizvodima opisanima u njemu. Dokument i njegov sadržaj ne smiju se upotrebljavati ni distribuirati ni u koju drugu svrhu niti se smiju na neki drugi način prenositi, otkrivati ili reproducirati bez prethodnog pisanog odobrenja tvrtke Illumina. Illumina ovim dokumentom ne prenosi nikakve licence zaštićene svojim pravom na patent, žig, autorskim pravom ili običajnim pravom ni slična prava bilo koje treće strane.

Kvalificirano i odgovarajuće obučeno osoblje mora se strogo i bez iznimki pridržavati uputa u ovom dokumentu da bi se zajamčila pravilna i sigurna upotreba proizvoda opisanih u njemu. Prije upotrebe proizvoda nužno je s razumijevanjem pročitati cjelokupan sadržaj dokumenta.

AKO UPUTE U DOKUMENTU NE PROČITATE U CIJELOSTI TE IH SE NE PRIDRŽAVATE BEZ IZNIMKI, MOŽE DOĆI DO OŠTEĆENJA PROIZVODA, OZLJEDA KORISNIKA ILI DRUGIH OSOBA I DO OŠTEĆENJA DRUGE IMOVINE TE SE TIME PONIŠTAVAJU SVA JAMSTVA ZA PROIZVODE.

ILLUMINA NE PREUZIMA ODGOVORNOST ZA ŠTETE NASTALE USLIJED NEPRAVILNE UPOTREBE PROIZVODA KOJI SU OPISANI U OVOM DOKUMENTU (UKLJUČUJUĆI DIJELOVE TIH PROIZVODA I SOFTVER).

© 2020. Illumina, Inc. Sva prava pridržana.

Svi su žigovi vlasništvo tvrtke Illumina, Inc. ili svojih vlasnika. Konkretno informacije o žigovima potražite na adresi www.illumina.com/company/legal.html.

Podaci za kontakt



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 SAD
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (izvan Sjeverne Amerike)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Australski sponsor

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

Oznake na proizvodu

Sveobuhvatno objašnjenje simbola koji se mogu pojaviti na pakiranju i naljepnicama proizvoda potražite u legendi simbola na web-mjestu support.illumina.com na kartici *Dokumentacija i literatura* vašeg kompleta.