

Комплет со реагенси за NextSeq™ 550Dx High Output v2.5 (300 циклуси)

ЗА ДИЈАГНОСТИЧКА УПОТРЕБА IN VITRO.

Каталошки број 20028871

Намена

Комплетот со реагенси за NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 циклуси) е комплет со реагенси и потрошен материјал наменет за секвенционирање примероци од библиотечен материјал и се користи со одобрени анализи. Комплетот е наменет да се користи со инструментот NextSeq 550Dx и со аналитички софтвер.

Начела на постапка

Комплетот со реагенси за NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 циклуси) е специјализиран комплет со реагенси и потрошен материјал за една употреба, за секвенционирање на инструментот NextSeq 550Dx. Комплетот со реагенси за NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 циклуси) како влез ги користи библиотечните материјали генерирани од ДНК кај кои индексите од примероците и добиените секвенци се додаваат кон амплифицираните целни вредности. Примероците библиотечен материјал се изработуваат врз проточна ќелија и се секвенционираат на инструментот со помош на хемиската постапка за секвенционирање со синтеза (SBS). При хемиската постапка за секвенционирање со синтеза се користи методата на реверзибилен терминатор за да се детектираат флуоресцентно означени единечни нуклеотидни бази додека се инкорпорираат во растечките ДНК-синџири. Бројот на примероци библиотечен материјал зависи од мултиплексирањето кое го поддржува дојдовниот начин на подготовка на библиотечниот материјал.

Во приложеното упатство за *инструментот NextSeq 550Dx* дадени се насоки како да се врши секвенционирање со инструментот NextSeq 550Dx.

Карактеристиките на перформансите и ограничувањата на процедурата за комплетот со реагенси за NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 циклуси) беа утврдени со помош на модулите за варијанти на герминативни и соматски клетки за софтверот Local Run Manager.

Ограничувања на процедурата

- 1 За дијагностичка употреба *in vitro*.
- 2 Отчитувањето со индели (инсерции, делеции или комбинации) чија должина на содржината е > 25 базни парови (bp) не е во склад со софтверот за анализа. Па затоа, софтверот за анализа не може да ги детектира инделите со должина од > 25 bp.
- 3 Софтверот за анализа можеби нема да ги усогласи отчитувањата на ампликоните со екстремна содржина, поради што регијата се евидентира како див-тип. Под екстремна содржина подразбираме:
 - ▶ Отчитувања што содржат повеќе од три индели
 - ▶ Отчитувања чија должина е најмалку 30 bp со содржина на варијанта со еден нуклеотид (SNV) > 4% од вкупната целна должина на ампликонот (без региите што се испитуваат)
 - ▶ Отчитувања чија должина е < 30 bp со содржина на SNV > 10 % од вкупната целна должина на ампликонот (со региите кои се испитуваат)
- 4 Големите варијанти, вклучувајќи варијанти со повеќе нуклеотиди (MNV) и големите индели, може да се евидентираат како посебни помали варијанти во излезната датотека VCF.

- 5 Варијантите на делеција може да се филтрираат или пропуштат кога се протегаат долж ампликони со две површини, ако должината на делецијата е поголема или еднаква на преклопувањето помеѓу ампликоните со повеќе површини.
- 6 Системот не може да детектира индели ако тие се појавуваат веднаш до прајмерот и ако нема преклопувачки ампликон. Кај региите со преклопувачки ампликони, анализата не може да открие делеции ако регијата на преклопување е помала од големината на делецијата што треба да се детектира. На пример, ако регијата на преклопување помеѓу два соседни ампликони е две бази, анализата не може да детектира делеции што ги опфаќаат тие две бази. Делецијата на една од тие бази може да се детектира.
- 7 Како и кај секој работен тек при подготовка на библиотечниот материјал на база на хибридизација, основните полиморфизми, мутации, инсерции или делеции во региите што се врзуваат за олигонуклеотиди, може да влијаат врз испитувањето на алелите и следствено на тоа, на одредувањата направени при секвенционирањето. На пример:
 - ▶ Варијанта во фаза со варијанта во регијата на прајмерот, може да не се амплифицира што ќе доведе до лажно негативен резултат.
 - ▶ Варијантите во регијата на прајмерот може да ја спречат амплификацијата на референтниот алел, што ќе доведе до неточно одредување на хомозиготната варијанта.
 - ▶ Варијантите на инделот во регијата на прајмерот можат да бидат причина за лажно позитивен резултат на крајот од отчитувањето непосредно до прајмерот.
- 8 Инделите може да се филтрираат, благодарение на предодреденоста на нишката, ако се појават при крајот од отчитувањето и ако се игнорираат при усогласувањето.
- 9 Малите варијанти со повеќе нуклеотиди (MNV) не се валидирани и се евидентираат само во модулот за соматски варијанти.
- 10 Делециите се евидентираат во датотеката VCF на координатата од претходната база во согласност со форматот на VCF. Затоа, земете ги предвид соседните варијанти пред да евидентирате дека поединечното одредување на базата е хомозиготна референца.
- 11 Ограничувања кои се однесуваат на герминативните клетки:
 - ▶ Инструментот NextSeq 550Dx, во комбинација со модулот за варијанти на герминативни глетки (Germline Variant Module) на софтверот Local Run Manager за NextSeq 550Dx, е наменет за изготвување квалитативни резултати за одредување варијанти на герминативни клетки (на пр. хомозиготни, хетерозиготни, див тип).
 - ▶ Кога се користи со модулот Germline Variant, минималната покриеност по ампликон која е потребна за точно да се одреди варијантата е 150x. Затоа се потребни 150 фрагменти од ДНК, што е еднакво на 300 преклопени отчитувања на спарени краеве. Бројот на примероци и вкупниот број таргетирани бази влијаат на покриеноста. Содржината на GC и останата геномска содржина може да влијаат на покриеноста.
 - ▶ Варијацијата во бројот на копии може да влијае на тоа дали варијантата ќе се идентификува како хомозиготна или хетерозиготна.
 - ▶ Во одредени контексти кои се повторуваат, варијантите се филтрираат во датотеките VCF. Филтерот за повторување RMxN се користи за филтрирање варијанти ако целата низа од варијантата или нејзини делови се повторуваат во референтниот геном во непосредна близина на поставеноста на варијантата. За да се одреди варијантата на герминативните клетки, потребни се најмалку девет повторувања во референтната содржина за да се филтрира варијантата, а се земаат предвид само повторувањата чија должина е до 5 bp (R5x9).
 - ▶ Индел и SNV на еден локус може да резултираат со евидентирање само една варијанта.
- 12 Ограничувања кои се однесуваат на соматските клетки:
 - ▶ Инструментот NextSeq 550Dx во комбинација со модулот за варијанти на соматски клетки (Somatic Variant Module) на софтверот Local Run Manager за NextSeq 550Dx, е наменет за изготвување квалитативни резултати за одредување варијанти на соматски клетки (на пр. присуство на соматски варијанти со фреквенција на варијанта $\geq 0,026$ и граница на детекција од 0,05).
 - ▶ Кога се користи со модулот за варијанти на соматски клетки, минималната покриеност по ампликон која е потребна за точно да се одреди варијантата е 450x по група на олигонуклеотиди. Како резултат на тоа

потребни се 450 придружни ДНК-фрагменти по група олигонуклеотиди, што е еднакво на 900 преклопени отчитувања на спарени краеви. Бројот на примероци и вкупниот број таргетирани бази влијаат на покриеноста. Содржината на GC и останата геномска содржина може да влијаат на покриеноста.

- ▶ За да се одреди варијантата на соматските клетки, потребни се најмалку шест повторувања во референтната содржина за да се филтрира варијантата, а се земаат предвид само повторувањата чија должина е до 3 bp (R3x6).
- ▶ Модулот за варијанти на соматски клетки не може да направи разлика помеѓу варијантите на герминативни и соматски клетки. Модулот е наменет да детектира варијанти во различни фреквенции, но фреквенцијата на варијанти не може да се користи за да се направи разлика помеѓу варијантите на соматски и на герминативните клетки.
- ▶ Нормалното ткиво во примерокот влијае врз детекцијата на варијантите. Пријавената граница на детекција се заснова на фреквенцијата на варијантата во однос на вкупната ДНК извлечена и од ткивото со тумор и од нормалното ткиво.

Компоненти на комплетот со реагенси

Секоја компонента од комплетот со реагенси за NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 циклуси) се наоѓа во посебна кутија. Веднаш ставете ги компонентите на пропишаната температура за да осигурите нивна правилна работа. Во продолжение е дадена листа со компонентите кои се наоѓаат во комплетот со реагенси.

Табела 1 Компоненти во комплетот со реагенси

Компонента	Количина	Волумен на пополнет дел	Опис	Чување*
Кертриџ со реагенси за NextSeq 550Dx High Output v2 (300 циклуси)	1 од секој	Разно	Реагенси за групирање и секвенционирање	-25 °C до -15 °C
Кертриџ со пуфер за NextSeq 550Dx High Output v2 (300 циклуси)	1 од секој	Разно	Пуфери и раствор за испирање	15 °C до 30 °C
Кертриџ со проточна ќелија за NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 циклуси)	1 од секој	не е применливо	Стаклена проточна ќелија со спарени краеви, за еднократна употреба	2 °C до 8 °C
Кутија со додатен прибор за NextSeq 550Dx (300 циклуси)	1 епрувета	12 ml	Пуфер за разрежување библиотечен материјал	-25 °C до -15 °C

Кертриџот со проточна ќелија за NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 циклуси) се испорачува на собна температура.

Броеви на серии

Комплетот со реагенси има единствен број на серија познат како број на серија за комплетот со реагенси. На секоја кутија во комплетот со реагенси е отпечатен бројот на серија за комплетот со реагенси. Компонентите од комплетот со реагенси што се наоѓаат во кутиите се означени со број на серија кој се однесува на таа компонента и тие броеви се разликуваат од бројот на серија за комплетот со реагенси. Потрошниот материјал за секвенционирање чувајте го во неговата кутија сè до неговата употреба за да знаете на кој комплет припаѓа. Во сертификатот за анализа за комплетот со реагенси ќе најдете дополнителни детали за броевите на деловите и сериите на одделни реагенси.

Ракување и чување

- 1 Собна температура се дефинира како температура од 15 °C до 30 °C.
- 2 Кога се чуваат на наведените температури, компонентите од комплетот со реагенси се стабилни до датумот на рокот на траење кој е наведен на етикетата.

- 3 Кутијата со додатен прибор за NextSeq 550Dx и кертриџот со реагенси за NextSeq 550Dx се стабилни до најмногу едно одмрзнување на собна температура пред рокот на траење кој е наведен на етикетата. Кертриџот со реагенси е стабилен до 6 часа откако ќе се одмрзне во водена бања на собна температура. Исто така, кертриџот со реагенси може да се одмрзне на 2 °C до 8 °C најмногу до 5 дена пред употребата.
- 4 Промените во физичкиот изглед на реагенсите може да укажуваат на влошување на материјалите. Ако по мешањето дојде до промени во физичкиот изглед, како што се очигледни промени во бојата на реагенсите или, пак, заматеност која укажува на контаминација со микроби, реагенсите не треба да се користат.

Потребни материјали и опрема, се продаваат посебно

- Инструмент NextSeq 550Dx, каталошки број 20005715

Предупредувања и мерки на претпазливост



ВНИМАНИЕ

Федералниот закон пропишува дека само лекари или други стручни лица лиценцирани од државата во која работат, можат да го продаваат овој производ или да издаваат налог за негова продажба, односно да го користат или, пак, да препишат негово користење.

- 1 Комплетот со реагенси за NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 циклуси) содржи потенцијално опасни хемикалии. Може да дојде до лични повреди преку вдишување, голтање, контакт со кожата и контакт со очите. Носете заштитна опрема, вклучувајќи заштита за очи, ракавици и лабораториски мантил соодветни за ризик од изложување. Со употребените реагенси постапувајте како со хемиски отпад и фрлете ги во согласност со важечките регионални, национални и локални закони и прописи.
- 2 За информации за здравјето, безбедноста и заштитата на животната средина, погледнете го безбедносниот лист (SDS) на support.illumina.com/sds.html.
- 3 Сите сериозни инциденти поврзани со овој производ веднаш пријавете ги до компанијата Illumina и до надлежните органи на земјите членки во кои се наоѓаат корисникот и пациентот.
- 4 Непридржувањето до наведените процедури може да доведе до погрешни резултати или, пак, до значително намалување на квалитетот на примерокот.
- 5 Придржувајте се до рутинските лабораториски мерки за претпазливост. Не пипетајте преку уста. Не јадете, не пијте и не пушете во просториите означени за работа. Кога ракувате со примероците и реагенсите за анализа, носете ракавици за една употреба и лабораториски мантил. По ракувањето со примероците и реагенсите за анализа, темелно измијте ги рацете.
- 6 Задолжителни се соодветните лабораториски практики и добрата лабораториска хигиена, за да не дојде до контаминација на реагенсите, инструментите и на геномските примероци ДНК од PCR-производите. PCR-контаминацијата може да биде причина за неточни и неверодостојни резултати.
- 7 За да не дојде до контаминација, проверете дали во деловите пред и по амплификацијата се користи посебна опрема (на пр. пипети, продолжетоци за пипети, Vortex-мешалка и центрифуга).

Упатство за употреба

Видете го приложеното упатство за *Инструментот NextSeq 550Dx* и применливите референтни водичи.

Карактеристики на перформансите

Видете го приложеното упатство за *Инструментот NextSeq 550Dx*.

Претходни ревизии

Документ	Датум	Опис на промената
Документ бр. 1000000073349 v03	ноември 2021 година	Додадена е изјава за предупредувања и мерки на претпазливост при пријавување сериозни инциденти. Додадена е табела со претходни ревизии.

Патенти и трговски марки

Овој документ и неговата содржина се сопственост на Illumina, Inc. и нејзините филијали („Illumina“) и се наменети исклучиво за договорна употреба од страна на нејзините клиенти во врска со употребата на производот(-ите) опишани овде и за никаква друга цел. Овој документ и неговата содржина не смеат да се користат или дистрибуираат за никаква друга цел и/или на друг начин да се пренесуваат, обелоденуваат или репродуцираат без претходна писмена согласност од Illumina. Со овој документ Illumina не пренесува никаква лиценца заштитена со патент, трговска марка, авторско право или обичајни и слични права на трети страни.

Квалификуваниот и соодветно обучен персонал мора строго и без никакви отстапки да се придржува до упатствата дадени во овој документ, за да се осигури правилна и безбедна употреба на производот (-ите), опишани во него. Пред да започнете да ги користите таквите производи, мора да ја прочитате целата содржина на овој документ и да ја разберете.

АКО НЕ ГИ ПРОЧИТАТЕ ЦЕЛОСНО И НЕ СЕ ПРИДРЖУВАТЕ ДО УПАТСТВОТА ДАДЕНИ ВО ОВОЈ ДОКУМЕНТ, МОЖЕ ДА ДОЈДЕ ДО ОШТЕТУВАЊЕ НА ПРОИЗВОДОТ (-ИТЕ), ПОВРЕДИ НА КОРИСНИЦИТЕ ИЛИ ДРУГИ ЛИЦА, И ОШТЕТУВАЊЕ ДРУГА СОПСТВЕНОСТ, СО ШТО СЕ ПОНИШТУВААТ СИТЕ ГАРАНЦИИ КОИ СЕ ОДНЕСУВААТ НА ПРОИЗВОДОТ (-ИТЕ).

ILLUMINA НЕ ПРЕЗЕМА НИКАКВА ОДГОВОРНОСТ ЗА ШТЕТИТЕ КОИ НАСТАНАЛЕ ПОРАДИ НЕПРАВИЛНА УПОТРЕБА НА ПРОИЗВОДОТ КАКО ШТО Е ОПИШАНО ОВДЕ (ВКЛУЧУВАЈЌИ ГИ И НЕГОВИТЕ ДЕЛОВИ ИЛИ СОФТВЕР).

© 2021 Illumina, Inc. Сите права се задржани.

Сите трговски марки се сопственост на Illumina, Inc. или на нивните соодветни сопственици. Подетални информации за трговските марки побарајте на www.illumina.com/company/legal.html.

Информации за контакт



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 САД
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (надвор од Северна Америка)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

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

Означување на производот

Целосното објаснување на симболите кои може да се појават на пакувањето и етикетите од производот може да го најдете во легендата со симболи за вашиот комплет на support.illumina.com.