

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

KUN TIL IN VITRO-DIAGNOSTIK

Katalognr. 20028871

Tilsigtet brug

illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (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 v2.5 (300 Cycles) er et specialiseret sæt reagenser og materialer til engangsbrug i forbindelse med sekventering på NextSeq 550Dx-instrumentet. Inputtet til NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (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 enkeltnukleotidbaser, når de inkorporeres i voksende DNA-streng. Antallet af prøvebiblioteker afhænger af den multipleksering, der understøttes af den tidligere biblioteksklargøringsmetode.

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 v2.5 (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 tilpasses af prøvesoftware. Som følge heraf påviser prøvesoftwaren ikke indels med en længde > 25 bp.
- 3 Analysoftwaren tilpasser muligvis ikke ampliconlæsninger med ekstremt indhold, hvilket medfører, at regionen rapporteres som en vildtype. Sådant ekstremt indhold omfatter:
 - ▶ Læsninger, der indeholder mere end tre indels
 - ▶ Læsninger med en længde på mindst 30 bp med indhold af enkeltnukleotidvariant (SNV) > 4 % af den totale ampliconmålslængde (eksklusive sondeområder)
 - ▶ Læsninger med en længde på < 30 bp med SNV-indhold > 10 % af den samlede ampliconlængde (inklusive probeområder)
- 4 Store varianter, inklusive multinukleotid-varianter (MNV'er) og store indels, kan rapporteres som separate mindre varianter i VCF-outputfilen.
- 5 Sletningsvariationer kan blive frasorteret eller overset, hvis de spænder over to sideliggende ampliconer, og sletningslængden er over eller lig med overlappningen mellem de to ampliconer.

- 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 overlapning 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 for 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 variation i fase med en variation i primerområdet forstærkes muligvis ikke, hvilket resulterer i en falsk negativ.
 - ▶ Variationer i primerområdet kan forhindre amplificering af referenceallelen, hvilket medfører ukorrekt bestemmelse af homozygotvariationen.
 - ▶ Indelvariationer i primerområdet kan forårsage et falsk positivt resultat ved enden af læsningen, der støder op til primeren.
- 8 Indels kan frasorteres på grund af strengpåvirkning, 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 de rapporteres kun i Somatic Variant Module.
- 10 Sletninger rapporteres i VCF på den foregående base pr. VCF-format. Derfor bør tilstødende variationer tages i betragtning, inden det rapporteres, at en individuel basebestemmelse er homozygot.
- 11 Kimcellespecifikke begrænsninger:
 - ▶ NextSeq 550Dx-instrumentet er designet til at levere kvalitative resultater vedrørende bestemmelse af kimbanevarianter (f.eks. homozygot, heterozygot, vildtype) ved brug af kimbanevariantmodulet til NextSeq 550Dx i Local Run Manager.
 - ▶ Brug af Gemline Variant Module kræver en minimal dækning pr. amplikon på 150x for at opnå nøjagtig variationsbestemmelse. Som følge heraf kræves 150 understøttende DNA-fragmenter, hvilket svarer til 300 overlappende læsninger med paired-end. Antallet af prøver og det samlede antal målrettede baser påvirker dækningen. CG-indholdet og andet genomisk indhold kan påvirke dækningen.
 - ▶ Variation af kopiantal kan påvirke, hvorvidt en variant bliver identificeret som homozygot eller heterozygot.
 - ▶ Variationer i bestemt repetitiv kontekst filtreres fra i VCF-fileme. RMxN-gentagelsesfilteret anvendes til at frasortere variationer, hvis hele eller dele af variationssekvensen er til stede gentagne gange i referencegenomet, der støder op til variationens position. Hvad angår bestemmelsen af kimcellevariationer, skal der være mindst ni gentagelser i referencen, før variationen filtreres, og kun gentagelser med en længde på 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.
 - ▶ Brug af Somatic Variant Module kræver en minimal dækning pr. amplikon på 450x pr. oligonukleotidpulje pr. oligonukleotidpulje for at opnå nøjagtig variationsbestemmelse. Som følge heraf kræves 450 understøttende DNA-fragmenter pr. oligonukleotidpulje, hvilket svarer til 900 overlappende læsninger med paired-end. Antallet af prøver og det samlede antal målrettede baser påvirker dækningen. CG-indholdet og andet genomisk indhold kan påvirke dækningen.
 - ▶ Hvad angår somatisk variationsbestemmelse, skal der være mindst seks gentagelser i referencen, før variationen filtreres, og kun gentagelser med en længde på op til 3 bp tages i betragtning (R3x6).
 - ▶ Somatic Variant Module kan ikke skelne mellem kimcellevariationer og somatiske variationer. Modulet er designet til at påvise variationer på tværs af en række variationsfrekvenser, men variationsfrekvenser kan ikke anvendes til at skelne mellem somatiske variationer og kimcellevariationer.
 - ▶ Normalvæv i prøven påvirker påvisningen af variationer. Den rapporterede detektionsgrænse er baseret på en variationsfrekvens i forhold til det samlede DNA, der er ekstraheret fra både tumor- og normalvæv.

Komponenter i reagenssættet

Alle dele i NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (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 v2.5 (300 Cycles)	1 hver	I/T	Engangsbrug, parret afslutning, glasflowcelle	2 °C til 8 °C
NextSeq 550Dx Accessory Box (300 Cycles)	1 rør	12 ml	Biblioteksfortyndingsbuffer	-25 °C til -15 °C

* NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 cycles) leveres ved rumtemperatur.

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 sekventeringsmaterialerne 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

- 1 Rumtemperatur er defineret som 15 °C til 30 °C.
- 2 Komponenterne i reagenssættet er stabile indtil udløbsdatoen på etiketten, hvis de opbevares ved de anviste temperaturer.
- 3 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 optøs ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage inden brug.
- 4 Ændringer i reagensernes udseende kan være tegn på nedbrydning af materiale. Reagenserne må ikke anvendes, hvis de ændrer udseende efter blanding, f.eks. markant farveændring eller uklarehed, der kan tyde på mikrobiel kontaminering.

Påkrævet udstyr og materialer, der sælges separat

- ▶ NextSeq 550Dx-instrument, katalognr. 20005715

Advarsler og forsigtighedsregler



FORSIGTIG

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

- 1 NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) indeholder potentielt farlige kemikalier. Inhalation, 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 Alle alvorlige hændelser, der er relateret til dette produkt, skal omgående indberettes til Illumina og til de kompetente myndigheder i brugerens og patientens opholdsland.
- 4 Manglende overholdelse af de beskrevne fremgangsmåder kan resultere i ukorrekte resultater eller betydeligt nedsat prøve kvalitet.
- 5 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.
- 6 Der skal anvendes korrekt laboratoriepraksis og god laboratoriehgygiejne for at forhindre, at PCR-produkterne kontaminerer reagenser, instrumenter og genomiske DNA-prøver. PCR-kontaminering kan forårsage unøjagtige og upålidelige resultater.
- 7 For at forhindre kontaminering skal det sikres, at de områder, der anvendes før og efter amplifikation, har udstyr, der er beregnet til formålet (f.eks. pipetter, pipettespidser, vortexblander og centrifuge).

Brugervejledning

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

Ydelsesegenskaber

Se indlægssedlen til *NextSeq 550Dx-instrumentet*.

Revisionshistorik

Dokument	Dato	Beskrivelse af ændring
Dokumentnr. 100000073349 v03	November 2021	Tilføjelse af erklæring om advarsler og forsigtighedsregler i forhold til rapportering af alvorlige hændelser. Tilføjelse af revisionshistorik.

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 kommunikeres, 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).

© 2021 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

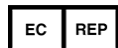
San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (uden for Nordamerika)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

Holland

Australsk sponsor

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Australien

Produktmærkning

Du kan finde en fyldestgørende forklaring til de symboler, der kan fremgå af produktemballagen og -mærkningen, i symbolforklaringen til det pågældende kit på support.illumina.com.