

NextSeq™ 550Dx högproduktivt reagenskit v2 (300 cykler)

FÖR IN VITRO-DIAGNOSTISKT BRUK

Katalognr 20019554

Avsedd användning

Illumina NextSeq 550Dx högproduktivt reagenskit v2 (300 cykler) är en uppsättning reagenser och förbrukningsmaterial som är avsedda för sekvensering av provbibliotek med hjälp av validerade analyser. Kitet är avsett för användning med NextSeq 550Dx instrument och analysprogramvara.

Grundläggande principer

NextSeq 550Dx högproduktivt reagenskit v2 (300 cykler) är en uppsättning reagenser och förbrukningsmaterial (för engångsbruk) för sekvensering med NextSeq 550Dx-instrumentet. Som indata använder NextSeq 550Dx högproduktivt reagenskit v2 (300 cykler) bibliotek som genererats från DNA där provindex och infångade sekvenser läggs till amplifierade mål. Provbibliotek fångas upp på en flödescell och sekvenseras av instrumentet med hjälp av SBS-kemi (sekvensering genom syntes). I SBS-kemi används en metod med reversibel terminator för att detektera fluorescensmärkta enkelnukleotidbaser medan de införlivas i växande DNA-strängar. Antalet provbibliotek beror på vilken typ av multiplex som stöds av beredningsmetoden för biblioteket uppströms.

I bipacksedeln till *NextSeq 550Dx-instrumentet* finns information om hur man utför sekvensering på NextSeq 550Dx-instrumentet.

Prestandaegenskaper och procedurbegränsningar för NextSeq 550Dx högproduktivt reagenskit v2 (300 cykler) har fastställts med hjälp av Local Run Manager-modulerna Germline Variant (könszellvariant) och Somatic Variant (somatisk variant).

Begränsningar

- 1 För *in vitro*-diagnostiskt bruk.
- 2 Läsningar med indels (insertioner, deletioner eller kombinationer) vars innehållslängd är > 25 baspar (bp) passas inte in av analysprogrammet. Det innebär att indels med en längd på > 25 bp inte detekteras av analysprogrammet.
- 3 Amplikonläsningar med extremt innehåll passas eventuellt inte in av analysprogrammet, vilket medför att regionen rapporteras som vildtyp. Exempel på sådant extremt innehåll är:
 - ▶ läsningar som innehåller fler än tre indels
 - ▶ läsningar med en längd på minst 30 bp med ett SNV-innehåll (enkelnukleotidvariant) på > 4 % av den totala amplikonmålslängden (exklusive probregioner)
 - ▶ läsningar med en längd på < 30 bp med ett SNV-innehåll på > 10 % av den totala amplikonlängden (inklusive probregioner).
- 4 Större varianter, såsom multinukleotider (MNV:er) och större indels, kan komma att rapporteras som separata mindre varianter i VCF-utdatafilen.
- 5 Deletionsvarianter kan filtreras eller missas när de sträcker sig över två överlappande amplikoner om deletionens längd är större än eller lika med överlappningen mellan amplikonerna.

- 6 Systemet kan inte detektera indels om de angränsar direkt till en primer och det inte finns någon överlappande amplikon. För regioner med överlappande amplikoner kan analysen inte detektera deletioner när regionen med överlappningen är mindre än den deletion som ska detekteras. Om regionen med överlappningen mellan två angränsande amplikoner är två baser, så kan analysen inte detektera några deletioner - inklusive båda baserna. En enbas-deletion vid endera av baserna kan detekteras.
- 7 Liksom med alla hybridiseringsbaserade arbetsflöden för beredning av bibliotek kan underliggande polymorfismer, mutationer, insertioner eller deletioner i oligonukleotid-bindande regioner påverka de alleler som undersöks och följaktligen de bestämningar som görs under sekvensering. Till exempel:
 - ▶ En variant i fas med en variant i primerregionen amplificeras eventuellt inte, vilket ger ett falskt negativt resultat.
 - ▶ Varianter i primerregionen kan förhindra amplifiering av referensallelen, vilket medför en felaktig homozygot variantbestämning.
 - ▶ Indelvarianter i primerregionen kan orsaka en falsk positiv bestämning i slutet av läsningen bredvid primern.
- 8 Indels kan filtreras på grund av strängbias om de finns nära slutet på en läsning och mjukklippas under inpassning.
- 9 Små MNV:er har inte validerats och rapporteras enbart i modulen Somatic Variant (somatisk variant).
- 10 Deletioner rapporteras i VCF-filen vid den föregående basens koordinat enligt VCF-formatet. Därför bör angränsande varianter övervägas innan en enskild basbestämning rapporteras som homozygot referens.
- 11 Könscellspecifika begränsningar:
 - ▶ NextSeq 550Dx-instrumentet, tillsammans med Local Run Manager-modulen Germline Variant (könscellvariant) för NextSeq 550Dx, är utformat för att ge kvalitativa resultat vid bestämning av könscellvarianter (t.ex. homozygot, heterozygot eller vildtyp).
 - ▶ Vid användning med modulen Germline Variant (könscellvariant) krävs en minsta täckning per amplikon på 150x för korrekt variantbestämning. Därmed krävs 150 stödjande DNA-fragment, vilket motsvarar 300 överlappande paired-end-läsningar. Antalet prover och det totala antalet målbaser påverkar täckningen. GC-innehåll och annat genomiskt innehåll kan påverka täckningen.
 - ▶ Variation i kopianal (CNV) kan påverka huruvida en variant identifieras som homozygot eller heterozygot.
 - ▶ Varianter i vissa repetitiva sammanhang filtreras bort i VCF-filerna. RMxN-upprepningsfiltret används för att filtrera varianter om hela eller en del av variantsekvensen upprepas i referensgenomet som angränsar till variantens position. För bestämning av könscellvarianter krävs minst nio upprepningar i referensen för att en variant ska filtreras, och endast upprepningar med en längd på upp till 5 bp beaktas (R5x9).
 - ▶ En indel och en SNV vid ett enda locus kan resultera i att endast en variant rapporteras.
- 12 Somaspecifika begränsningar:
 - ▶ NextSeq 550Dx-instrumentet, tillsammans med Local Run Manager-modulen Somatic Variant (somatisk variant) för NextSeq 550Dx, är utformat för att ge kvalitativa resultat vid bestämning av somatiska varianter (t.ex. bestämning av en somatisk variant med en variantfrekvens på $\geq 0,026$ med en detektionsgräns på 0,05).
 - ▶ Vid användning med modulen Somatic Variant (somatisk variant) krävs en minsta täckning per amplikon på 450x per oligonukleotid-pool för korrekt variantbestämning. Därmed krävs 450 stödjande DNA-fragment per oligonukleotidpool, vilket motsvarar 900 överlappande paired-end-läsningar. Antalet prover och det totala antalet målbaser påverkar täckningen. GC-innehåll och annat genomiskt innehåll kan påverka täckningen.
 - ▶ För bestämning av somatiska varianter krävs minst sex upprepningar i referensen för att en variant ska filtreras, och endast upprepningar med en längd på upp till 3 bp beaktas (R3x6).
 - ▶ Somatic Variant-modulen (somatisk variant) kan inte skilja mellan könscellvarianter och somatiska varianter. Modulen är utformad för att detektera varianter med ett antal olika variantfrekvenser, men variantfrekvens kan inte användas för att skilja mellan somatiska varianter och könscellvarianter.
 - ▶ Normal vävnad i provet påverkar detektionen av varianter. Den rapporterade detektionsgränsen baseras på en variantfrekvens som är relativ till det totala DNA som extraheras från både tumörvävnad och normal vävnad.

Komponenter i reagenskitet

Varje komponent i NextSeq 550Dx högproduktivt reagenskit v2 (300 cykler) tillhandahålls i en separat förpackning. Förvara omedelbart komponenterna i den angivna temperaturen för att säkerställa korrekt prestanda. Nedan följer en lista över komponenterna i reagenskitet.

Tabell 1 Komponenter i reagenskitet

Komponent	Antal	Fyllnadsvolym	Beskrivning	Förvaring
NextSeq 550Dx högproduktiv reagenskasset v2 (300 cykler)	1 st.	Varierar	Klustrings- och sekvenseringsreagenser	-25 °C till -15 °C
NextSeq 550Dx buffertkasset v2 (300 cykler)	1 st.	Varierar	Buffertar och tvättlösning	15 °C till 30 °C
NextSeq 550Dx högproduktiv flödescellskasset v2 (300 cykler)	1 st.	Ej tillämpligt	Paired-end-flödescell av glas, för engångsbruk	2 °C till 8 °C
NextSeq 550Dx tillbehörslåda (300 cykler)	1 rör	12 ml	Biblioteksspädningsbuffert	-25 °C till -15 °C

Lotnummer

Reagenskitet har ett specifikt lotnummer, som benämns reagenskitets lotnummer. Reagenskitets lotnummer finns tryckt på varje enskild förpackning i reagenskitet. Reagenskitets komponenter som finns inuti förpackningarna är märkta med komponentspecifika lotnummer som skiljer sig från reagenskitets lotnummer. Förvara förbrukningsmaterial för sekvensering i deras förpackningar tills de ska användas så att kiten inte blandas ihop. Se reagenskitets analyscertifikat för information om reagensets artikel- och lotnummer.

Förvaring och hantering

- 1 Rumstemperatur definieras som 15 °C till 30 °C.
- 2 Komponenterna i reagenskitet levereras under temperaturreglerade förhållanden och är stabila till utgångsdatumet på etiketten, under förutsättning att de förvaras i angivna temperaturer.
- 3 NextSeq 550Dx-tillbehörslådan och NextSeq 550Dx-reagenskassetten är stabila tills de har tinats högst en gång i rumstemperatur före angivet utgångsdatum. Reagenskassetten är stabil i upp till 6 timmar när den tinats i rumstempererat vattenbad. Alternativt kan reagenskassetten tinats vid 2-8 °C i upp till 5 dagar före användning.
- 4 Förändringar i reagensernas fysiska utseende kan tyda på att materialens beskaffenhet försämrats. Om reagensens fysiska utseende ändras efter blandning, t.ex. märkbara förändringar i reagensfärg eller tydlig grumlighet med mikrobiell kontamination, ska reagensen inte användas.

Nödvändig utrustning och material som säljs separat

- ▶ NextSeq 550Dx-instrument, katalognr 20005715

Varningar och försiktighetsåtgärder



VARNING

Enligt amerikansk federal lag får denna produkt endast säljas av eller på ordination av läkare eller övrig vårdpersonal som har licens i den delstat där han/hon är verksam och får använda eller ordinera användning av produkten.

- 1 NextSeq 550Dx högproduktivt reagenskit v2 (300 cykler) innehåller potentiellt farliga kemikalier. Personskador kan uppstå vid inandning, intagande, hudkontakt och ögonkontakt. Använd skyddsutrustning, inklusive ögonskydd, handskar och en laboratorierock som lämpar sig för den här graden av exponering. Hantera använda reagenser som kemiskt avfall och kassera dem i enlighet med nationella och lokala bestämmelser.
- 2 Information om miljö, hälsa och säkerhet finns i säkerhetsdatabladet på support.illumina.com/sds.html.
- 3 Om procedurerna inte följs enligt givna anvisningar kan det leda till felaktiga resultat eller avsevärt försämrad provkvalitet.

- Arbeta enligt vedertagna laboratorierutiner. Använd inte pipetten med munnen. Ät inte, drick inte och rök inte på angivna arbetsområden. Använd engångshandskar och laboratorierock vid hantering av prov och analysreagenser. Tvätta händer noga efter att du hanterat prov och analysreagenser.
- God laboratoriesed och laboratoriehygien krävs för att förhindra att PCR-produkter kontaminerar reagenser, instrument och prover med genomiskt DNA. PCR-kontamination kan ge upphov till felaktiga och otillförlitliga resultat.
- För att undvika kontamination ska områdena före och efter amplifiering ha sin egen utrustning (t.ex. pipetter, pipettspetsar, vortexblandare och centrifug).

Bruksanvisning

Se bipacksedeln till *NextSeq 550Dx-instrumentet* och tillhörande referensguider.

Prestandaegenskaper

Se bipacksedeln till *NextSeq 550Dx-instrumentet*.

Patent och varumärken

Dokumentet och dess innehåll tillhör Illumina, Inc. och dess dotterbolag ("Illumina") och är endast avsett för användning enligt avtal i samband med kundens bruk av produkterna som beskrivs häri. Allt annat bruk är förbjudet. Dokumentet och dess innehåll får ej användas eller distribueras i något annat syfte och/eller återges, delges eller reproduceras på något vis utan föregående skriftligt tillstånd från Illumina. I och med detta dokument överlåter Illumina inte någon licens som hör till dess patent, varumärke eller upphovsrätt, eller i enlighet med rättspraxis eller liknande tredjepartsrättigheter.

Instruktionerna i detta dokument ska följas till punkt och pricka av kvalificerad och lämpligt utbildad personal för att säkerställa rätt och säker produktanvändning i enlighet med beskrivning häri. Hela innehållet i dokumentet ska läsas och förstås i sin helhet innan produkten (produkterna) används.

UNDERLÅTENHET ATT LÄSA OCH FÖLJA ALLA INSTRUKTIONER HÄRI I SIN HELHET KAN MEDFÖRA SKADA PÅ PRODUKTEN/PRODUKTERNA, PERSONSKADA, INKLUSIVE SKADA PÅ ANVÄNDAREN/ANVÄNDARNA ELLER ANDRA PERSONER SAMT SKADA PÅ ANNAN EGENDOM, OCH LEDER TILL ATT EVENTUELL GARANTI FÖR PRODUKTEN/PRODUKTERNA BLIR OGILTIG.

ILLUMINA KAN INTE ÅLÄGGAS NÅGOT ANSVAR SOM UPPKOMMER GENOM FELAKTIG ANVÄNDNING AV PRODUKTERNA SOM BESKRIVS HÄRI (INKLUSIVE DELAR DÄRI ELLER PROGRAM).

© 2020 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

Alla varumärken tillhör Illumina, Inc. eller respektive ägare. Specifik varumärkesinformation finns på www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktinformation



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 USA
+1 800-8094566
+1 858-2024566 (utanför Nordamerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Australisk sponsor

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

Märkning av produkter

En fullständig lista över symbolerna på produktens förpackning och etiketter finns i symbolförklaringen på support.illumina.com, under fliken *Documentation and Literature* (Dokumentation och litteratur) för respektive produkt.