

NextSeq™ 550Dx-reagenskit met hoge capaciteit v2.5 (300 cycli)

BESTEMD VOOR IN-VITRODIAGNOSTIEK

Catalogusnr. 20028871

Beoogd gebruik

De Illumina NextSeq 550Dx-reagenskit met hoge capaciteit v2.5 (300 cycli) is een set reagentia en verbruiksartikelen bedoeld voor sequencing van monsterbibliotheken bij gebruik met gevalideerde tests. De kit is bedoeld voor gebruik met het NextSeq 550Dx-instrument en de bijbehorende analysesoftware.

Principes van de procedure

De NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) is een gespecialiseerde set reagentia en verbruiksartikelen voor eenmalig gebruik voor sequencing met het NextSeq 550Dx-instrument. De NextSeq 550Dx-reagenskit met hoge capaciteit v2.5 maakt voor de invoer gebruik van bibliotheken die zijn gegenereerd uit DNA waarbij monsterindexen en opnamesequenties aan geamplificeerde targets worden toegevoegd. Monsterbibliotheken worden vastgelegd op een flowcel en gesequenced op het instrument met behulp van SBS-chemie (sequencing by synthesis). SBS-chemie maakt gebruik van een omkeerbare terminatormethode om fluorescent gelabelde enkelvoudige nucleotidebasen te detecteren wanneer ze worden opgenomen in groeiende DNA-strengen. Het aantal monsterbibliotheken is afhankelijk van de multiplexing die wordt ondersteund door de methode van bibliotheekvoorbereiding upstream.

De bijsluiter van het *NextSeq 550Dx-instrument* geeft instructies over het uitvoeren van sequencing op het NextSeq 550Dx-instrument.

De werkingseigenschappen en beperkingen van de procedure van de NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycli) zijn vastgesteld met behulp van de modules voor kiemlijnvarianten en somatische varianten in Local Run Manager.

Beperkingen van de procedure

- 1 Bestemd voor *in-vitrodiagnostiek*.
- 2 Aflezingen die indels bevatten (inserties, deleties of combinaties daarvan) waarbij de lengte > 25 basenparen (bp) is, worden niet uitgelijnd door de assaysoftware. Als gevolg hiervan zijn indels met een lengte van > 25 bp niet detecteerbaar voor de assaysoftware.
- 3 Het is mogelijk dat de assaysoftware de amplicon-aflezingen met extreme inhoud niet uitlijnt, waardoor de regio wordt gerapporteerd als wild-type. Dergelijke extreme inhoud omvat:
 - ▶ Aflezingen met meer dan drie indels;
 - ▶ aflezingen met een lengte van minimaal 30 bp met een SNV-inhoud (enkelvoudige nucleotide-variant) van > 4% van de totale amplicon-doellengte (exclusief regio's van probes);
 - ▶ aflezingen met een lengte van < 30 bp met een SNV-inhoud van > 10% van de totale amplicon-lengte (inclusief regio's van sondes).
- 4 Grote varianten, inclusief multi-nucleotide varianten (MNV's) en grote indels worden mogelijk gerapporteerd als afzonderlijke kleine varianten in het VCF-uitvoerbestand.
- 5 Deletievarianten kunnen worden gefilterd of gemist als deze twee amplicontegels overlappen waar de deletielengte groter is dan of gelijk is aan de overlap tussen de amplicontegels.

- 6 Het systeem kan indels niet detecteren als deze direct aangrenzend aan een primer voorkomen en er geen overlappende amplicon is. Voor regio's met overlappende amplicons, kan de test deleties niet detecteren als de overlappingsregio kleiner is dan de afmeting van de deletie die moet worden gedetecteerd. Bijvoorbeeld: als de overlappingsregio tussen twee aangrenzende amplicons twee basen betreft, kan de test geen deleties detecteren inclusief beide basen. Een deletie van een enkele base op een van deze basen kan worden gedetecteerd.
- 7 Zoals bij elke op hybridisatie gebaseerde workflow voor bibliotheekvoorbereiding, kunnen onderliggende polymorfismen, mutaties, inserties of deleties in oligonucleotide-bindende regio's invloed hebben op de allelen die worden onderzocht en daarnaast op de sequentiebevestigingen. Bijvoorbeeld:
 - ▶ Een variant in fase met een variant in de primerregio wordt mogelijk niet geamplificeerd, wat resulteert in een vals-negatief resultaat.
 - ▶ Varianten in de primerregio kunnen de amplificatie van het referentie-allel voorkomen, wat resulteert in een onjuiste homozygote variantenbepaling.
 - ▶ Indel-varianten in de primerregio kunnen een vals-positieve bepaling veroorzaken aan het einde van de aflezing naast de primer.
- 8 Indels kunnen worden gefilterd vanwege vertekening van strengen als ze zich aan het einde van een aflezing voordoen en tijdens het uitlijnen zijn afgekapt.
- 9 Kleine MNV's zijn niet gevalideerd en worden alleen gerapporteerd in de module voor somatische varianten.
- 10 Deleties worden gerapporteerd in de VCF op de coördinaat van de voorgaande base per VCF-indeling. Beoordeel daarom of er aangrenzende varianten zijn voordat u meldt dat een individuele base-bepaling een homozygote referentie is.
- 11 Germline-specifieke beperkingen:
 - ▶ Het NextSeq 550Dx-instrument, dat gebruikmaakt van de Local Run Manager Germline Variant Module for NextSeq 550Dx, is ontworpen om kwalitatieve resultaten te leveren voor kiemlijnvariantbepalingen (bijv. homozygoot, heterozygoot, wild-type).
 - ▶ Bij gebruik in combinatie met de module voor kiemlijnvarianten is de minimale dekking per amplicon die nodig is voor nauwkeurige variantbepalingen 150x. Dit betekent dat er 150 ondersteunende DNA-fragmenten vereist zijn, wat overeenkomt met 300 overlappende paired-end-bepalingen. Het aantal monsters en het totale aantal beoogde basen kunnen de dekking beïnvloeden. GC-inhoud en andere genomische inhoud kunnen de dekking beïnvloeden.
 - ▶ Variatie in het aantal kopieën kan van invloed zijn op het feit of een variant wordt geïdentificeerd als homozygoot of heterozygoot.
 - ▶ Varianten in een bepaalde repetitieve context worden uitgefilterd in de VCF-bestanden. Het RMxN-herhalingsfilter wordt gebruikt om varianten te filteren als het geheel of een deel van de variantsequentie herhaaldelijk aanwezig is in de referentiegenoom naast de positie van de variant. Voor een bepaling van kiembaanvarianten zijn ten minste negen herhalingen in de referentie vereist om een variant te filteren, en alleen herhalingen met een lengte tot 5 bp worden in aanmerking genomen (R5x9).
 - ▶ Een indel en een SNV op dezelfde locus kunnen ertoe leiden dat slechts één variant wordt gerapporteerd.
- 12 Specifieke somatische beperkingen:
 - ▶ Het NextSeq 550Dx-instrument, dat gebruikmaakt van de module voor somatische varianten in Local Run Manager voor NextSeq 550Dx, is ontworpen om kwalitatieve resultaten te leveren voor somatische variantbepalingen (zoals de aanwezigheid van een somatische variant met een variantfrequentie van $\geq 0,026$ met een detectielimiet van 0,05).
 - ▶ Bij gebruik in combinatie met de module voor somatische varianten is de minimale dekking per amplicon die nodig is voor nauwkeurige variantbepalingen 450x per oligonucleotidenpool. Dit betekent dat er 450 ondersteunende DNA-fragmenten vereist zijn per oligonucleotidenpool, wat overeenkomt met 900 overlappende paired-end-bepalingen. Het aantal monsters en het totale aantal beoogde basen kunnen de dekking beïnvloeden. GC-inhoud en andere genomische inhoud kunnen de dekking beïnvloeden.
 - ▶ Voor een bepaling van somatische varianten zijn ten minste zes herhalingen in de referentie vereist om de variant te filteren, en alleen herhalingen met een lengte tot 3 bp worden in aanmerking genomen (R3x6).

- ▶ De module voor somatische varianten maakt geen onderscheid tussen kiemlijn- en somatische varianten. De module is ontworpen om varianten op een reeks variantfrequenties te detecteren, maar variantfrequentie kan niet worden gebruikt om somatische varianten van kiemlijnvarianten te onderscheiden.
- ▶ Normaal weefsel in het monster kan de detectie van varianten beïnvloeden. De gerapporteerde detectielimiet is gebaseerd op een variantfrequentie ten opzichte van het totale DNA dat is geëxtraheerd uit zowel tumorweefsel als normaal weefsel.

Onderdelen van de reagenskit

Elk onderdeel van de NextSeq 550Dx-reagenskit met hoge capaciteit v2.5 (300 cycli) wordt in een aparte doos geleverd. Bewaar de onderdelen direct bij de aangegeven temperatuur voor een goede werking. Een lijst met onderdelen van de reagenskit wordt hieronder weergegeven.

Tabel 1 Onderdelen van de reagenskit

Onderdeel	Aantal	Vulvolume	Omschrijving	Opslag*
NextSeq 550Dx-reagenscartridge met hoge capaciteit v2 (300 cycli)	per stuk	Variërend	Clustering- en sequentiëringsreagentia	-25 °C tot -15 °C
NextSeq 550Dx-buffercartridge v2 (300 cycli)	per stuk	Variërend	Buffers en wasoplossing	15 °C tot 30 °C
NextSeq 550Dx-stroomcelcartridge met hoge capaciteit v2.5 (300 cycli)	per stuk	N.v.t.	Glazen stroomcel, paired-end, voor eenmalig gebruik	2 °C tot 8 °C
NextSeq 550Dx-accessoiredoos (300 cycli)	1 buisje	12 ml	Bibliotheekverduunningsbuffer	-25 °C tot -15 °C

*De NextSeq 550Dx-stroomcelcartridge met hoge capaciteit v2.5 (300 cycli) wordt verzonden bij omgevingstemperatuur.

Partijnummers

De reagenskit heeft één partijnummer, dat het partijnummer van de reagenskit wordt genoemd. Elke doos in de reagenskit is bedrukt met het partijnummer van de reagenskit. Reagenskitonderdelen die zich in de dozen bevinden, zijn bedrukt met voor de onderdelen specifieke partijnummers die verschillen van het partijnummer van de reagenskit. Houd verbruiksartikelen voor sequencing opgeslagen in de desbetreffende dozen totdat ze klaar zijn voor gebruik met de bijbehorende kitpartij. Raadpleeg het analysecertificaat van de reagenskit voor informatie over onderdeelnummers van de reagenskit en partijnummers.

Opslag en hantering

- 1 Kamertemperatuur wordt gedefinieerd als 15 °C tot 30 °C.
- 2 De bestanddelen van de reagenskits zijn stabiel tot de vervaldatum op het label als ze worden bewaard bij de aangegeven bewaartemperaturen.
- 3 De NextSeq 550Dx-accessoiredoos en NextSeq 550Dx-reagenscartridge zijn stabiel bij maximaal één keer ontdooien tot kamertemperatuur vóór de gespecificeerde vervaldatum. De reagenscartridge blijft tot 6 uur stabiel wanneer deze wordt ontdooid in een waterbad op kamertemperatuur. De reagenscartridge kan ook tot 5 dagen voor gebruik worden ontdooid bij 2 °C tot 8 °C.
- 4 Uiterlijke veranderingen in de reagentia kunnen duiden op kwaliteitsverslechtering van de materialen. Als er sprake is van uiterlijke veranderingen na het mengen, zoals duidelijke veranderingen in de kleur van het reagens of troebelheid als gevolg van microbiële verontreiniging, mogen de reagentia niet worden gebruikt.

Benodigde apparatuur en materialen, apart verkrijgbaar

- ▶ NextSeq 550Dx-instrument, catalogusnr. 20005715

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen



LET OP

Op grond van federale Amerikaanse wetgeving mag dit apparaat alleen worden verkocht door of in opdracht van een arts of een andere beroepsbeoefenaar die daartoe bevoegd is volgens de wetgeving van de staat waarin deze persoon werkzaam is, met het oogmerk om het apparaat te gebruiken of te doen gebruiken.

- 1 De NextSeq 550Dx-reagenskit met hoge capaciteit v2.5 (300 cycli) bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving.
- 2 Raadpleeg voor informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad (SDS) op support.illumina.com/sds.html.
- 3 Meld ernstige incidenten in verband met dit product onmiddellijk aan Illumina en de bevoegde autoriteiten van de lidstaten waar de gebruiker en de patiënt gevestigd zijn.
- 4 Wanneer de omschreven procedures niet worden gevolgd, kunnen de resultaten onjuist zijn of kan de monsterkwaliteit aanzienlijk slechter zijn.
- 5 Volg de standaard voorzorgsmaatregelen die in het laboratorium gelden. Pipetteer niet met de mond. Niet eten, drinken of roken in de aangegeven werkgebieden. Draag wegwerphandschoenen en een laboratoriumjas bij het hanteren van monsters en assayreagentia. Was de handen grondig na het hanteren van monsters en assayreagentia.
- 6 Goede laboratoriumpraktijken en goede laboratoriumhygiëne zijn vereist om te voorkomen dat reagentia, instrumenten en genomische DNA-monsters worden verontreinigd door PCR-producten. PCR-verontreiniging kan onjuiste en onbetrouwbare resultaten veroorzaken.
- 7 Zorg ervoor dat de pre-amplificatie- en post-amplificatiegebieden zijn voorzien van speciale apparatuur (bijv. pipetten, pipetpunten, vortexer en centrifuge).

Gebruiksaanwijzing

Raadpleeg de bijsluiter van het *NextSeq 550Dx-instrument* en toepasselijke referentiegidsen.

Werkingeigenschappen

Raadpleeg de bijsluiter van het *NextSeq 550Dx-instrument*.

Revisiegeschiedenis

Document	Datum	Omschrijving van wijziging
Documentnr. 1000000073349 v03	November 2021	'Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen' toegevoegd over het melden van ernstige incidenten. Revisiegeschiedenistabel toegevoegd.

Octrooien en handelsmerken

Dit document en de inhoud ervan zijn eigendom van Illumina, Inc. en haar dochterondernemingen ('Illumina'), en zijn alleen bedoeld voor contractueel gebruik door haar klanten in verband met het gebruik van de hierin beschreven producten en voor geen enkel ander doel. Dit document en de inhoud ervan mogen niet worden gebruikt of gedistribueerd voor welk ander doel dan ook en/of op een andere manier worden gecommuniceerd, geopenbaard of gereproduceerd zonder de voorafgaande schriftelijke toestemming van Illumina. Illumina geeft door middel van dit document geen licenties onder haar patent, handelsmerk, auteursrecht of gewoonterechten noch soortgelijke rechten van derden door.

De instructies in dit document moeten strikt en uitdrukkelijk worden opgevolgd door gekwalificeerd en voldoende opgeleid personeel om een correct en veilig gebruik van de hierin beschreven producten te waarborgen. Alle inhoud van dit document moet volledig worden gelezen en begrepen voordat dergelijke producten worden gebruikt.

HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN NIET UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT KAN RESULTEREN IN SCHADE AAN DE PRODUCTEN, LETSEL AAN PERSONEN (INCLUSIEF GEBRUIKERS OF ANDEREN) EN SCHADE AAN ANDERE EIGENDOMMEN. BIJ HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN NIET UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT VERVALLEN ALLE GARANTIES DIE VAN TOEPASSING ZIJN OP HET PRODUCT.

ILLUMINA IS OP GEEN ENKELE MANIER AANSPRAKELIJK VOOR GEVOLGEN VAN EEN ONJUIST GEBRUIK VAN DE PRODUCTEN DIE HIERIN WORDEN BESCHREVEN (INCLUSIEF DELEN DAARVAN OF SOFTWARE).

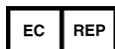
© 2021 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

Alle handelsmerken zijn het eigendom van Illumina, Inc. of hun respectievelijke eigenaren. Ga naar www.illumina.com/company/legal.html voor meer informatie over specifieke handelsmerken.

Contactgegevens



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, Californië 92122 VS
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (buiten Noord-Amerika)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

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

Productlabeling

Raadpleeg voor een volledige uitleg van symbolen die mogelijk worden weergegeven op de verpakkingen en labels van de producten het symbooloverzicht voor uw kit via support.illumina.com.