

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

FÖR IN VITRO-DIAGNOSTISKT BRUK

Katalognr 20028871

Avsedd användning

Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) är en uppsättning reagenser och förbrukningsmaterial som är avsedda för sekvensering av provbibliotek med hjälp av validerade analyser. Satsen är avsedd att användas med NextSeq 550Dx-instrument och -analysprogramvara.

Grundläggande principer

NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) är en specialiserad uppsättning reagenser och förbrukningsmaterial (för engångsbruk) för sekvensering med NextSeq 550Dx-instrumentet. Som indata använder NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) bibliotek som genererats från DNA där provindex och infångade sekvenser läggs till amplifierade mål. Provbibliotek fångas upp i 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 Instrument* finns information om hur man utför sekvensering på NextSeq 550Dx-instrumentet.

Prestandaegenskaper och procedurbegränsningar för NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) har fastställts med hjälp av Local Run Manager-modulerna Germline Variant (Könscellsvariant) 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 området 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 sondområden).
- 4 Större varianter, som 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 områden med överlappande amplikoner kan analysen inte detektera deletioner när området med överlappningen är mindre än den deletion som ska detekteras. Om exempelvis det överlappande området mellan två intilliggande amplikoner är två baser kan analysen inte detektera några deletioner som inkluderar båda de två 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 oligonukleotidbindande regioner påverka de alleler som undersöks och följaktligen de bestämningar som görs under sekvensering. Här följer några 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 Könscells specifika begränsningar:
 - ▶ NextSeq 550Dx-instrumentet, tillsammans med Local Run Manager-modulen Germline Variant (Könscellsvariant) för NextSeq 550Dx, är utformat för att ge kvalitativa resultat vid bestämning av könscellsvarianter (t.ex. homozygot, heterozygot eller vildtyp).
 - ▶ Vid användning med modulen Germline Variant (Könscellsvariant) krävs en minsta täckning per amplikon på 150x för korrekt variantbestämning. Därmed krävs 150 stödande 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 antalet kopior 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 (R5 x 9).
 - ▶ En indel och en SNV i ett och samma locus kan leda till endast en variant som rapporteras.
- 12 Begränsningarna nedan gäller specifikt för somatiska varianter:
 - ▶ 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 450 x per oligonukleotidpool för korrekt variantbestämning. Därmed krävs 450 stödande 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 (R3 x 6).
 - ▶ Modulen Somatic Variant (Somatisk variant) kan inte skilja mellan könscellsvarianter 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 könscellsvarianter.
 - ▶ Normal vävnad i provet påverkar detekteringen av varianter. Den rapporterade detekteringsgränsen baseras på en variantfrekvens som förhåller sig till det totala DNA som extraheras från både tumörvävnad och normal vävnad.

Komponenter i reagenssatsen

Varje komponent i NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) tillhandahålls i en separat förpackning. Förvara omedelbart komponenterna i den angivna temperaturen för att säkerställa korrekt prestanda. Nedan följer en lista över komponenterna i reagenssatsen.

Tabell 1 Komponenter i reagenssatsen

Komponent	Antal	Fyllnadsvolym	Beskrivning	Förvaring*
NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 cycles)	1 st.	Varierar	Klustrings- och sekvenseringsreagenser	-25 °C till -15 °C
NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 cycles)	1 st.	Varierar	Buffertar och tvättlösning	15 °C till 30 °C
NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 cycles)	1 st.	Ej tillämpligt	Paired-end-flödescell av glas, för engångsbruk	2 °C till 8 °C
NextSeq 550Dx Accessory Box (300 cycles)	1 rör	12 ml	Biblioteksspädningsbuffert	-25 °C till -15 °C

*NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 cycles) levereras i omgivningstemperatur.

Lotnummer

Reagenssatsen har ett specifikt lotnummer, som benämns reagenssatsens lotnummer. Reagenssatsens lotnummer finns tryckt på varje enskild förpackning i reagenssatsen. Reagenssatsens komponenter som finns inuti förpackningarna är märkta med komponentspecifika lotnummer som skiljer sig från reagenssatsens lotnummer. Förvara förbrukningsmaterial för sekvensering i deras förpackningar tills de ska användas så att satserna inte blandas ihop. Information om reagensets artikel- och lotnummer finns i reagenssatsens analyscertifikat.

Förvaring och hantering

- 1 Rumstemperatur definieras som 15 °C till 30 °C.
- 2 Komponenterna i reagenssatsen är stabila fram till utgångsdatumet på etiketten, under förutsättning att de förvaras i angivna temperaturer.
- 3 NextSeq 550Dx Accessory Box och NextSeq 550Dx Reagent Cartridge 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 ett rumstempererat vattenbad. Alternativt kan reagenskassetten tinas vid 2–8 °C i upp till 5 dagar före användning.
- 4 Förändringar av reagensemas utseende kan indikera en försämring av materialens kvalitet. Om reagensens fysiska utseende ändras efter blandning, t.ex. märkbare förändringar i reagensfärg eller tydlig grumlighet med mikrobiell kontamination, ska reagensen inte användas.

Nödvändig utrustning och nödvändigt material som säljs separat

- ▶ NextSeq 550Dx Instrument, katalognr 20005715

Varningar och försiktighetsåtgärder



FÖRSIKTIGHET!

Enligt federal lag i USA 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 High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) 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 Rapportera omedelbart allvarliga händelser relaterade till den här produkten till Illumina och behöriga myndigheter i det land där användaren och patienten befinner sig.
- 4 Om proceduren inte följs enligt givna anvisningar kan det leda till felaktiga resultat eller avsevärt försämrade provkvalitet.
- 5 Arbeta enligt vedertagna laborierutiner. 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.
- 6 God laboratoriesed och laborierhygien 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.
- 7 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 Instrument* och tillhörande referensguider.

Prestandaegenskaper

Se bipacksedeln till *NextSeq 550Dx Instrument*.

Revisionshistorik

Dokument	Datum	Ändringsbeskrivning
Dokumentnr 100000073349 v03	November 2021	Information om rapportering av allvarliga händelser har lagts till i avsnittet Varningar och försiktighetsåtgärder. Tabellen Revisionshistorik har lagts till.

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 här. 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 här. 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).

© 2021 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.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Nederländerna

Australiensisk 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 för din sats på support.illumina.com.