

Komplet reagensa NextSeq™ 550Dx High Output v2.5 (300 ciklusa)

ZA IN VITRO DIJAGNOSTIČKU UPOTREBU

Kataloški broj 20028871

Namena

Komplet reagensa Illumina NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 ciklusa) je komplet reagensa i potrošnog materijala namenjen za sekvenciranje biblioteka uzoraka i koristi se sa odobrenim analizama. Komplet je namenjen za korišćenje sa instrumentom NextSeq 550Dx i analitičkim softverom.

Načela postupka

Komplet reagensa NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 ciklusa) je specijalizovani komplet reagensa i potrošnog materijala za jednokratnu upotrebu namenjen za sekvenciranje na instrumentu NextSeq 550Dx. Komplet reagensa NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 ciklusa) kao ulaz koristi biblioteke generisane iz DNK kod kojih se indeksi uzorka i prikupljene sekvence dodaju amplifikovanim ciljevima. Biblioteke sa uzorcima se snimaju u protočnoj ćeliji i sekvenciraju na instrumentu hemijskim postupkom sekvenciranja sintezom (eng. sequencing by synthesis, SBS). Hemijski postupak sekvenciranja sintezom koristi metodu reverzibilnog terminatora za otkrivanje fluorescentno označenih jednonukleotidnih baza dok se one inkorporiraju u rastuće DNK lance. Broj biblioteka sa uzorcima zavisi od multipleksiranja koje podržava metod uzlazne pripreme biblioteke.

Uputstvo u pakovanju za *instrument NextSeq 550Dx* sadrži uputstva za obavljanje sekvenciranja na instrumentu NextSeq 550Dx.

Karakteristike performansi i ograničenja postupka za komplet reagensa NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 ciklusa) utvrđeni su korišćenjem modula Local Run Manager Germline Variant i Somatic Variant.

Ograničenja postupka

- 1 Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu.
- 2 Očitavanja sa indelima (inercije, delecije ili kombinacije) kod kojih je dužina sadržaja > 25 parova baza (base pairs, bp) nisu poravnata u softveru za analizu. Zato softver za analizu ne može da prepozna indele dužine > 25 bp.
- 3 Softver za analizu možda ne može da poravna očitavanja amplikona sa ekstremnim sadržajem, što dovodi do evidentiranja regiona kao regiona divljeg tipa. Takav ekstremni sadržaj obuhvata:
 - ▶ očitavanja koja sadrže više od tri indela
 - ▶ očitavanja dužine najmanje 30 bp sa sadržajem varijante sa jednim nukleotidom (SNV) > 4% od ukupne ciljne dužine amplikona (isključujući probne regione)
 - ▶ očitavanja dužine < 30 bp sa sadržajem varijante sa jednim nukleotidom (SNV) > 10% od ukupne dužine amplikona (uključujući probne regione)
- 4 Velike varijante, uključujući varijante sa više nukleotida (MNV) i veliki indeli mogu da se evidentiraju kao manje varijante u izlaznoj VCF datoteci.
- 5 Varijante delecije mogu da se filtriraju ili propuste kada se prostiru duž dva amplikona u kvadratićima ako je dužina delecije veća od preklapanja između amplikona u kvadratiću ili mu je jednaka.

- 6 Sistem ne može da otkrije indele ako se jave odmah pored prajmera i ako nema preklapajućeg amplikona. U slučaju regiona sa preklapajućim amplikonima, analiza ne može da otkrije delecije kada je region preklapanja manji od veličine delecije koju je potrebno otkriti. Na primer, ako region preklapanja između dva susedna amplikona čine dve baze, analiza ne može da otkrije delecije koje obuhvataju obe baze. Delecija jedne od tih baza može da se otkrije.
- 7 Kao i u svakom toku rada pripreme biblioteke zasnovane na hibridizaciji, osnovni polimorfizmi, mutacije, insercije ili delecije u regionima vezivanja oligonukleotida mogu uticati na ispitivanje alela i, shodno tome, na određivanja tokom sekvenciranja. Na primer:
 - ▶ Varijanta u fazi sa varijantom u regionu prajmera možda neće biti amplifikovana, što će dovesti do lažno negativnog rezultata.
 - ▶ Varijante u regionu prajmera mogu da spreče amplifikovanje referentnog alela, što će dovesti do netačnog određivanja homozigotne varijante.
 - ▶ Varijante indela u regionu prajmera mogu dovesti do lažnog pozitivnog određivanja na kraju očitavanja neposredno uz prajmer.
- 8 Zahvaljujući otklonu lanca, indeli mogu da se filtriraju ako se jave pri kraju jednog očitavanja i ako se tokom poravnjanja ignorišu.
- 9 Male varijante sa više nukleotida (MNV) nisu proverene i evidentiraju se samo u modulu Somatic Variant.
- 10 Delecije se evidentiraju u VCF datoteci na koordinatama prethodne baze u skladu sa VCF formatom. Zato uzmite u obzir susedne varijante pre nego što evidentirate da je pojedinačno određivanje baze homozigotna referenca.
- 11 Ograničenja specifična za modul Germline Variant (za germinativne ćelije):
 - ▶ Instrument NextSeq 550Dx, kada koristi modul Germline Variant softvera Local Run Manager (lokalni upravljač za pokretanje) za NextSeq 550Dx, dizajniran je da pruži kvalitativne rezultate za određivanje varijanti germinativnih (klicinih) ćelija (npr. homozigot, heterozigot, divlji tip).
 - ▶ Kada se koristi sa modulom Germline Variant, minimalna pokrivenost po amplikonu potrebna za tačno određivanje varijanti iznosi 150x. Zato je potrebno 150 fragmenata DNK, što je ekvivalentno broju od 300 preklapljenih očitavanja uparenih krajeva. Broj uzoraka i ukupan broj ciljanih baza utiču na pokrivenost. Na pokrivenost mogu da utiču sadržaj GC i drugi genomski sadržaj.
 - ▶ Varijacija broja kopija može da utiče na to da li će varijanta biti prepoznata kao homozigotna ili heterozigotna.
 - ▶ Varijante u određenim ponavljajućim kontekstima filtriraju se iz VCF datoteka. Filter za ponavljanja R_MxN se koristi za filtriranje varijanti ako se cela sekvenca varijante ili njen deo ponavljaju u referentnom genomu pored pozicije varijante. Pri određivanju varijanti germinativnih ćelija, potrebno je najmanje devet ponavljanja u referentnom sadržaju da bi varijanta bila filtrirana, a u obzir se uzimaju samo ponavljanja dužine najviše 5 bp (R₅x9).
 - ▶ Jedan indel i jedan SNV na jednom lokusu mogu da dovedu do izveštavanja o samo jednoj varijanti.
- 12 Ograničenja specifična za modul Somatic Variant (za somatske ćelije):
 - ▶ Instrument NextSeq 550Dx, kada koristi modul Somatic Variant softvera Local Run Manager (Lokalni upravljač za pokretanje) za NextSeq 550Dx, dizajniran je da pruži kvalitativne rezultate za određivanje varijanti somatskih ćelija (npr. prisutnost somatske varijante sa frekvencijom varijante $\geq 0,026$ i granicom otkrivanja od 0,05).
 - ▶ Kada se koristi sa modulom Somatic Variant, minimalna pokrivenost po amplikonu potrebna za tačno određivanje varijanti iznosi 450x po skupu oligonukleotida. Zato je potrebno 450 fragmenata DNK po skupu oligonukleotida, što je ekvivalentno broju od 900 preklapljenih očitavanja uparenih krajeva. Broj uzoraka i ukupan broj ciljanih baza utiču na pokrivenost. Na pokrivenost mogu da utiču sadržaj GC i drugi genomski sadržaj.
 - ▶ Pri određivanju varijanti somatskih (telesnih) ćelija, potrebno je najmanje šest ponavljanja u referentnom sadržaju da bi varijanta bila filtrirana, a u obzir se uzimaju samo ponavljanja dužine najviše 3 bp (R₃x6).
 - ▶ Modul Somatic Variant ne može da razlikuje varijante germinativnih ćelija od varijanti somatskih ćelija. Modul je namenjen za otkrivanje varijanti u velikom opsegu frekvencija varijanti, ali se frekvencija varijanti ne može koristiti za razlikovanje somatskih varijanti od varijanti germinativnih ćelija.
 - ▶ Normalno tkivo uzorka utiče na otkrivanje varijante. Evidentirana granica otkrivanja je zasnovana na frekvenciji varijante u odnosu na ukupnu DNK ekstrahovanu iz tumorskog i normalnog tkiva.

Komponente kompleta reagensa

Svaka komponenta kompleta reagensa NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 ciklusa) isporučuje se u zasebnoj kutiji. Odmah skladištite komponente na navedenoj temperaturi kako biste osigurali odgovarajući učinak. U nastavku je naveden spisak komponenti kompleta reagensa.

Tabela 1 Komponente kompleta reagensa

Komponenta	Količina	Zapremina popunjenog dela	Opis	Skladištenje*
Kertridž za reagense NextSeq 550Dx High Output v2 (300 ciklusa)	1 po komadu	Razno	Reagensi za klasterizaciju i sekvenciranje	Od -25 °C do -15 °C
Kertridž za pufer NextSeq 550Dx v2 (300 ciklusa)	1 po komadu	Razno	Puferi i rastvor za ispiranje	Od 15 °C do 30 °C
Kertridž protočne ćelije za NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 ciklusa)	1 po komadu	Nije primenjivo	Staklena protočna ćelija sa uparenim krajevima za jednokratnu upotrebu	Od 2 °C do 8 °C
Kutija sa dodatnim priborom NextSeq 550Dx (300 ciklusa)	1 epruveta	12 ml	Pufer za razređivanje biblioteke	Od -25 °C do -15 °C

*Kertridž protočne ćelije za NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 ciklusa) isporučuje se na sobnoj temperaturi.

Brojevi serija

Komplet reagensa ima jedan broj serije koji se zove broj serije kompleta reagensa. Broj serije kompleta reagensa je odštampan na svakoj kutiji u kompletu reagensa. Komponente kompleta reagensa koje se nalaze u kutijama označene su brojevima serija specifičnim za komponente i razlikuju se od broja serije kompleta reagensa. Držite potrošni materijal za sekvenciranje u odgovarajućim kutijama do trenutka kada treba da ga koristite kako biste znali kojoj seriji kompleta pripada. Detalje o brojevima delova i brojevima serija pojedinih reagensa potražite u sertifikatu analize kompleta reagensa.

Skladištenje i rukovanje

- 1 Sobna temperatura se definiše kao temperatura od 15 °C do 30 °C.
- 2 Kada se skladište na navedenoj temperaturi, komponente kompleta reagensa su stabilne do datuma isteka roka trajanja navedenog na oznaci.
- 3 Kutija sa dodatnim priborom NextSeq 550Dx i kertridž za reagense NextSeq 550Dx su stabilni do najviše jednog odmrzavanja i dostizanja sobne temperature pre navedenog datuma isteka roka trajanja. Kertridž za reagense je stabilan do 6 sati kada je odmrznut u vodenoj kupki sobne temperature. Pored toga, kertridž za reagense se može odmrznuti i na temperaturi od 2 °C do 8 °C do 5 dana pre upotrebe.
- 4 Promene fizičkog izgleda reagensa mogu upućivati na propadanje materijala. Ako dođe do promena u fizičkom izgledu posle mešanja, npr. do očigledne promene boje reagensa ili vidljive zamućenosti uz kontaminaciju mikrobima, nemojte koristiti reagense.

Obavezna oprema i materijali, prodaju se zasebno

- ▶ Instrument NextSeq 550Dx, kataloški broj 20005715

Upozorenja i mere predostrožnosti



OPREZ

Savezni zakon propisuje da samo lekari ili drugi stručnjaci koje je licencirala država u kojoj deluju mogu da prodaju ovaj proizvod ili izdaju nalog za njegovu prodaju, odnosno da ga koriste ili prepisu njegovo korišćenje.

- 1 Komplet reagensa NextSeq 550Dx High Output v2.5 (300 ciklusa) sadrži potencijalno opasne hemikalije. Udisanje, gutanje, kontakt sa kožom i očima mogu dovesti do telesnih povreda. Nosite zaštitnu opremu, uključujući zaštitu za oči, rukavice i laboratorijski mantil odgovarajuće za opasnost od izlaganja. Iskorišćenim reagensima treba rukovati kao sa hemijskim otpadom i odložiti ih na otpad u skladu sa primenjivim regionalnim, nacionalnim i lokalnim zakonima i propisima.
- 2 Informacije o zaštiti životne sredine, zdravlju i bezbednosti potražite u bezbednosnom listu (SDS) na veb-sajtu support.illumina.com/sds.html.
- 3 Sve ozbiljne incidente u vezi sa ovim proizvodom odmah prijavite kompaniji Illumina i nadležnim organima u državama članicama u kojima se nalaze korisnik i pacijent.
- 4 Nepridržavanje navedenih procedura može dovesti do pogrešnih rezultata ili značajnog smanjenja kvaliteta uzoraka.
- 5 Pridržavajte se rutinskih laboratorijskih mera predostrožnosti. Ne primenjujte pipetiranje ustima. Nemojte jesti, piti ni pušiti u prostorima namenjenim za rad. Koristite rukavice za jednokratnu upotrebu i laboratorijske mantile kada rukujete uzorcima i reagensima za analizu. Ruke temeljno operite nakon rukovanja uzorcima i reagensima za analizu.
- 6 Odgovarajuće laboratorijske prakse i dobra higijena u laboratoriji su obavezni da bi se sprečila kontaminacija reagensa, instrumenata i genomskih DNK uzoraka PCR proizvodima. Kontaminacija PCR proizvodima može dovesti do netačnih i nepouzdanih rezultata.
- 7 Da biste sprečili kontaminaciju, uverite se da se u područjima pre amplifikacije i područjima posle amplifikacije koristi posebna oprema (npr. pipete, nastavci za pipete, Vortex mešalica i centrifuga).

Uputstvo za korišćenje

Pogledajte uputstvo u pakovanju za *instrument NextSeq 550Dx* i primenjive referentne vodiče.

Karakteristike učinka

Pogledajte uputstvo u pakovanju za *instrument NextSeq 550Dx*.

Istorija revizija

Dokument	Datum	Opis promene
Br. dokumenta 1000000073349 v03	Novembar 2021.	Dodata je izjava „Upozorenja i mere predostrožnosti“ oko prijavljivanja ozbiljnih incidenata. Dodata je tabela „Istorija revizija“.

Patenti i žigovi

Ovaj dokument i njegov sadržaj su u vlasništvu kompanije Illumina, Inc. i njenih podružnica („Illumina“) i namenjeni su isključivo za ugovorno korišćenje njenih kupaca u vezi sa korišćenjem proizvoda koji su ovde opisani i ni za šta drugo. Ovaj dokument i njegov sadržaj ne smeju se koristiti niti distribuirati ni za koju drugu svrhu niti se smeju prenositi, otkrivati ili reprodukovati ni na koji način bez prethodnog pisanog pristanka kompanije Illumina. Illumina ne prenosi nikakvu licencu pod patentom, robnom markom, autorskim pravom ili javnim pravom niti sličnim pravima bilo kog trećeg lica prema ovom dokumentu.

Stručna i adekvatno obučena lica moraju strogo i izričito da poštuju uputstva u ovom dokumentu kako bi se obezbedila ispravna i bezbedna upotreba ovde opisanih proizvoda. Pre upotrebe tih proizvoda obavezno je u potpunosti pročitati i razumeti celokupnu sadržinu ovog dokumenta.

UKOLIKO NE PROČITATE I NE PRATITE OVO UPUTSTVO U CELOSTI, TO MOŽE DA DOVEDE DO OŠTEĆENJA PROIZVODA, POVREDA LICA, KAO ŠTO SU KORISNICI ILI DRUGA LICA, I OŠTEĆENJA DRUGE IMOVINE I TIME ĆE SE PONIŠTITI SVAKA GARANCIJA KOJA SE ODNOSI NA PROIZVOD.

KOMPANIJA ILLUMINA NE PREUZIMA NIKAKVU ODGOVORNOST USLED NEADEKVATNE UPOTREBE OVDEOPISANIH PROIZVODA (UKLJUČUJUĆI I NJIHOVE DELOVE ILI SOFTVER).

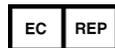
© 2021. Illumina, Inc. Sva prava zadržana.

Svi žigovi su vlasništvo kompanije Illumina, Inc. ili odgovarajućih vlasnika. Konkretno informacije o žigovima potražite na adresi www.illumina.com/company/legal.html.

Kontakt informacije



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 SAD
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (van Severne Amerike)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



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

Australijski sponzor

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

Oznake proizvoda

Sveobuhvatno objašnjenje simbola koji se mogu pojaviti na pakovanju i oznakama proizvoda potražite u legendi simbola za svoj komplet na veb-sajtu support.illumina.com.