

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

ВИКОРИСТОВУВАТИ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO

№ за каталогом 20028871

Передбачене використання

Набір реагентів Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) — це набір реагентів і витратних матеріалів, призначених для секвенування бібліотек зразків у разі використання з валідованими аналізами. Набір реагентів призначено для використання з приладом і аналітичним програмним забезпеченням NextSeq 550Dx.

Принципи виконання процедури

Набір реагентів NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) — це спеціалізований одноразовий набір реагентів і витратних матеріалів для секвенування, розроблений для використання на приладі NextSeq 550Dx. Щодо вхідних даних, у наборі реагентів NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) використовуються бібліотеки, отримані з дезоксирибонуклеїнових кислот (ДНК), де індекси зразків і послідовності для захоплення додаються до ампліфікованих цільових фрагментів. Бібліотеки зразків фіксуються на проточній кюветі та секвенуються на приладі за допомогою хімічної реакції секвенування завдяки синтезу (SBS). У хімічній реакції SBS використовується метод оборотних термінаторів для виявлення флуоресцентно-мічених однонуклеотидних основ, тому що їх включено в нитки ДНК, які зростають. Кількість бібліотек зразків залежить від мультиплексування, що підтримується попереднім методом підготовки бібліотек.

В інструкції з використання *приладу NextSeq 550Dx* наведено вказівки з виконання секвенування на приладі NextSeq 550Dx.

Технічні характеристики й обмеження процедури для набору реагентів NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) було встановлено з використанням модулів Germline Variant Module і Somatic Variant Module програмного забезпечення Local Run Manager.

Обмеження процедури

- 1 Використовувати для діагностики *in vitro*.
- 2 Зчитування з інделами (інсерції, делеції або їхні комбінації) довжиною > 25 пар основ (п. о.) програмним забезпеченням аналізу не вирівнюються. Отже, програмне забезпечення аналізу не виявляє індели довжиною > 25 п. о.
- 3 Програмне забезпечення аналізу може не вирівнювати зчитування ампліконів з украй високим вмістом, через що відповідну ділянку буде зареєстровано як дикий тип. Такий украй високий вміст передбачає наведене нижче.
 - ▶ Зчитування, що містять понад три індели.
 - ▶ Зчитування довжиною щонайменше 30 п. о. з вмістом однонуклеотидних варіантів (single nucleotide variants, SNV) > 4 % загальної цільової довжини ампліконів (за винятком ділянок зондів).
 - ▶ Зчитування завдовжки < 30 п. о. із вмістом SNV > 10 % загальної довжини ампліконів (включно з ділянками зондів).

- 4 Великі варіанти, зокрема багатонуклеотидні варіанти (multi-nucleotide variants, MNV) і великі інсерції/делеції, можуть бути визначені як окремі менші варіанти у вихідному файлі VCF.
- 5 Варіанти делецій можна фільтрувати або пропускати під час стягування двох сегментованих ампліконів, якщо довжина делеції дорівнює перекриттю між сегментованими ампліконами або більша.
- 6 Система не здатна виявляти індели, коли вони виникають прямо поряд із праймером, а амплікона з перекриттям немає. Для ділянок з ампліконами, що перекриваються, аналіз не здатен виявити делеції, коли така ділянка перекриття менша за розмір делеції, яку потрібно виявити. Наприклад, якщо ділянка перекриття між двома суміжними ампліконами становить дві основи, аналіз не може виявити жодні делеції, зокрема ці обидві основи. Одноосновну делецію на будь-якій із цих основ виявити можна.
- 7 Як і в разі з будь-яким робочим процесом підготовки бібліотеки на основі гібридизації, первинні поліморфізми, мутації, інсерції або делеції в ділянках зв'язування олігонуклеотидів можуть впливати на алелі, що досліджуються, а отже, — розпізнавання під час секвенування. Приклад наведено далі.
 - ▶ Варіант у фазі, де варіант перебуває в ділянці праймера, може не піддаватись ампліфікації, що призводить до хибнонегативних результатів.
 - ▶ Варіанти в ділянці праймера можуть заважати ампліфікації референсного алеля, що призводить до неправильного розпізнавання гомозиготного варіанта.
 - ▶ Варіанти інделів у ділянці праймера можуть призводити до хибнопозитивного розпізнавання в кінці зчитування біля праймера.
- 8 Індели можна фільтрувати завдяки викривленню нитки, якщо вони виникають поруч із кінцем одного зчитування й піддаються м'якому усиченню під час вирівнювання.
- 9 Малі MNV валідацію не проходили, і про них повідомляється лише в модулі Somatic Variant Module.
- 10 Про делеції повідомляється у файлі VCF у координаті попередньої основи відповідно до формату VCF. Тому, перш ніж повідомляти про окреме розпізнавання основи як про гомозиготний референсний варіант, розгляньте суміжні варіанти.
- 11 Обмеження, що стосуються зародкової лінії.
 - ▶ Прилад NextSeq 550Dx, у якому використовується модуль Germline Variant Module програмного забезпечення Local Run Manager для NextSeq 550Dx, призначено для отримання якісних результатів розпізнавання варіантів зародкової лінії (наприклад, гомозиготних, гетерозиготних, дикого типу).
 - ▶ Коли використовується модуль Germline Variant Module, мінімальне покриття на амплікон, потрібне для точного розпізнавання варіантів, становить 150x. Зрештою потрібно 150 допоміжних фрагментів ДНК, що дорівнює 300 парним зчитуванням, які перекриваються. На покриття впливають кількість зразків і загальна кількість цільових основ. На покриття може впливати вміст GC й інший геномний вміст.
 - ▶ Варіація числа копій може впливати на те, яким буде визначено варіант: гомозиготним чи гетерозиготним.
 - ▶ У файлах VCF варіанти в певному повторному контексті відфільтровуються. Для фільтрації варіантів використовується фільтр повторів R_MxN, якщо вся послідовність варіанта або її частина повторно присутня в референсному геномі, суміжному з позицією варіанта. Для розпізнавання варіантів зародкової лінії в референсному геномі потрібно принаймні дев'ять повторів, щоб варіант було відфільтровано. До уваги беруться лише повтори завдовжки до 5 п. о. (R₅x9).
 - ▶ Наявність інделу й SNV в одному локусі може призвести до виявлення лише одного варіанта.
- 12 Обмеження, що стосуються соматичних варіантів.
 - ▶ Прилад NextSeq 550Dx, у якому використовується модуль Somatic Variant Module програмного забезпечення Local Run Manager для NextSeq 550Dx, призначено для отримання якісних результатів розпізнавання соматичних варіантів (тобто наявність соматичного варіанта з варіантною частотою $\geq 0,026$ із межею виявлення 0,05).
 - ▶ Коли використовується модуль Somatic Variant Module, мінімальне покриття на амплікон, потрібне для точного розпізнавання варіантів, становить 450x на пул олігонуклеотидів. Зрештою потрібно 450 допоміжних фрагментів ДНК на пул олігонуклеотидів, що дорівнює 900 парним зчитуванням, які перекриваються. На покриття впливають кількість зразків і загальна кількість цільових основ. На покриття може впливати вміст GC й інший геномний вміст.
 - ▶ Для розпізнавання соматичних варіантів у референсному геномі потрібно принаймні шість повторів, щоб варіант було відфільтровано. До уваги беруться лише повтори завдовжки до 3 п. о. (R₃x6).

- ▶ Somatic Variant Module (Модуль соматичних варіантів) не здатен відрізнити варіанти зародкової лінії від соматичних варіантів. Модуль призначений для виявлення варіантів у межах діапазону частот варіантів, але частота варіанта не може використовуватися для диференціації соматичних варіантів від варіантів зародкової лінії.
- ▶ Вміст нормальної тканини в зразку впливає на виявлення варіантів. Зареєстрована межа виявлення базується на частоті варіанта щодо загальної ДНК, екстрагованої як із пухлини, так і з нормальної тканини.

Компоненти з набору реагентів

Кожен компонент із набору реагентів NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) надається в окремій коробці. Завчасно розміщайте компоненти за вказаної температури, щоб забезпечити належні характеристики. Нижче наведено список компонентів із набору реагентів.

Таблиця 1 Компоненти з набору реагентів

Компонент	Кількість	Об'єм наповнення	Опис	Зберігання*
Картридж із реагентами NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 cycles)	1 кожного	Різне	Реагенти для кластеризації та секвенування	Від -25 до -15 °C
Картридж із буферами NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 cycles)	1 кожного	Різне	Буфери й промивний розчин	Від 15 до 30 °C
Картридж NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2 (300 cycles)	1 кожного	Н/Д	Одноразова скляна проточна кювета для парних кінцевих фрагментів	Від 2 до 8 °C
Коробка з приладдям NextSeq 550Dx Accessory Box (300 cycles)	1 пробірка	12 мл	Буфер для розведення бібліотеки	Від -25 до -15 °C

* Картридж із проточною кюветою NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 cycles) має транспортуватися за температури навколишнього середовища.

Номери серій

Набір реагентів має один номер серії, який називається номером серії набору реагентів. На кожній коробці в наборі реагентів надруковано номер серії набору реагентів. На компонентах із набору реагентів, що містяться всередині коробок, надруковано номери серій компонентів, які відрізняються від номера серії набору реагентів. Щоб відстежувати, до якої серії набору належать витратні матеріали для секвенування, зберігайте їх у відповідних коробках до того, як вони будуть готові до використання. Докладніше про номери компонентів і номери серій реагентів див. у сертифікаті аналізу набору реагентів.

Зберігання й поводження

- 1 Кімнатною температурою вважається температура від 15 до 30 °C.
- 2 Компоненти з набору реагентів є стабільними за умови їх зберігання за зазначених температур до закінчення терміну придатності, указанного на етикетці.
- 3 Коробка з приладдям NextSeq 550Dx Accessory Box і картридж із реагентами NextSeq 550Dx Reagent Cartridge є стабільними протягом щонайбільше одного розморожування до кімнатної температури до настання дати завершення терміну придатності. Картридж із реагентами є стабільним протягом 6 годин за умови розморожування на водяній бані за кімнатної температури. Також картридж із реагентами можна розморожувати за температур 2–8 °C протягом 5 днів перед використанням.

- 4 Зміни в зовнішньому вигляді реагентів можуть указувати на псування матеріалів. У разі виникнення змін у зовнішньому вигляді, як-от очевидні зміни кольору реагентів або їхнє помутніння, що спостерігається на тлі мікробного забруднення, реагенти використовувати заборонено.

Потрібні обладнання й матеріали, продаються окремо

- ▶ Прилад NextSeq 550Dx Instrument, № за каталогом 20005715

Застереження



ПОПЕРЕДЖЕННЯ

Федеральний закон дозволяє продаж цього виробу лише за призначенням або на замовлення лікарів або інших спеціалістів, які займаються медичною практикою, що мають ліцензію від штату, у якому вони здійснюють свою практику, з метою використання або замовлення на використання цього виробу.

- 1 Набір реагентів NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) містить потенційно небезпечні хімічні речовини. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоду здоров'ю. Надягайте захисне приладдя, зокрема захист очей, рукавички та лабораторний одяг, з огляду на ризик впливу. Поводьтеся з використаними реактивами як із хімічними відходами й утилізуйте їх відповідно до застосовних регіональних, державних і місцевих законів та нормативних правил.
- 2 Щоб отримати інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорт безпеки продукції (safety data sheet, SDS) на сайті support.illumina.com/sds.html.
- 3 негайно повідомляйте про всі серйозні інциденти, пов'язані з цим виробом, у компанію Illumina й компетентні установи держав, у яких перебувають користувач і пацієнт.
- 4 Недотримання викладених процедур може призвести до неправильних результатів або значного погіршення якості зразка.
- 5 Використовуйте стандартні заходи застереження, прийняті в лабораторії. Не використовуйте піпетування ротом. Не вживайте їжу або напої й не палить у робочих зонах. Під час роботи зі зразками та реагентами для аналізу надягайте одноразові рукавички й лабораторний одяг. Після роботи зі зразками та реагентами для аналізу ретельно мийте руки.
- 6 Наложні правила поведінки й гігієни в лабораторії є обов'язковими для попередження забруднення реагентів, приладів та інструментів, а також геномних зразків ДНК продуктами полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Забруднення продуктами ПЛР може призвести до неправильних і ненадійних результатів.
- 7 Щоб попередити забруднення, виділіть для зон преампліфікації та постампліфікації спеціальне обладнання (як-от піпетки, наконечники піпеток, вихрову мішалку й центрифугу).

Інструкції з використання

Див. інструкцію з використання *приладу NextSeq 550Dx* і відповідні довідкові посібники.

Технічні характеристики

Див. інструкцію з використання *приладу NextSeq 550Dx*.

Історія редакцій

Документ	Дата	Опис змін
Документ № 1000000073349, версія 03	Листопад 2021 р.	У розділ «Застереження» додано пункт про звітність щодо серйозних інцидентів. Додано таблицю з історією редакцій.

Патенти й товарні знаки

Цей документ і його зміст є власністю компанії Illumina, Inc. і її філій (надалі — Illumina). Він призначений лише для того, щоб користувач використовував вироби тільки за угодою в цілях, описаних у цьому документі. Цей документ і його зміст не слід використовувати або поширювати з будь-якою іншою метою та/або для іншого обговорення, розкриття або відтворення в той або інший спосіб без попередньої письмової згоди компанії Illumina. Цим документом компанія Illumina не надає жодного дозволу на свій патент, товарний знак, авторське право або загальноприйняті права, а також на подібні права будь-яких третіх сторін.

Щоб гарантувати правильне та безпечне використання виробів, описаних у цьому документі, кваліфікований і належно навчений персонал повинен суворо та чітко дотримуватись інструкцій, описаних у цьому документі. Перед використанням цих виробів потрібно повністю прочитати й зрозуміти весь зміст цього документа.

НЕПОВНЕ ВИВЧЕННЯ ВСІХ ЗАЗНАЧЕНИХ У ЦЬОМУ ДОКУМЕНТІ ВКАЗІВОК І ЇХ НЕЧІТКЕ ДОТРИМАННЯ МОЖЕ ПРИЗВОДИТИ ДО ПОШКОДЖЕННЯ ЦИХ ВИРОБІВ, ТРАВМУВАННЯ ЛЮДЕЙ, ВКЛЮЧНО З КОРИСТУВАЧАМИ АБО ІНШИМИ ОСОБАМИ, І ПОШКОДЖЕННЯ ІНШОЇ ВЛАСНОСТІ, А ТАКОЖ ПРИЗВЕДЕ ДО ВТРАТИ БУДЬ-ЯКИХ ГАРАНТІЙНИХ ЗОБОВ'ЯЗАНЬ, ЗАСТОСОВНИХ ДО ЦИХ ВИРОБІВ.

КОМПАНІЯ ILLUMINA НЕ НЕСЕ ЖОДНОЇ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ, ЩО ВИНИКАЄ ВНАСЛІДОК НЕНАЛЕЖНОГО ВИКОРИСТАННЯ ВИРОБІВ, ОПИСАНИХ У ЦЬОМУ ДОКУМЕНТІ (ВКЛЮЧНО З ЙОГО ЧАСТИНАМИ АБО ПРОГРАМНИМ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯМ).

© Illumina, Inc., 2021. Усі права застережено.

Усі товарні знаки — власність компанії Illumina, Inc. або їхніх відповідних власників. Конкретна інформація про товарні знаки зазначена на сторінці www.illumina.com/company/legal.html.

Контактна інформація



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A. (США)
+1 800 809.ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (за межами Північної Америки)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands (Нідерланди)

Австралійський спонсор

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

Маркування виробу

Повний список символів, які може бути зображено на упаковці або маркуванні виробу, див. в поясненні символів на вебсайті: support.illumina.com.

Уповноважений представник в Україні (Authorized Representative in Ukraine):



ТОВ «БІОЛАБТЕХ ЛТД»
проспект Героїв Сталінграда буд.42-А, кв.45
м. Київ, 04213, Україна
Тел.: +38 044 492 81 88
Електронна адреса: info@biolabtech.com.ua, ЄДРПОУ
34891619