

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

IN VITRO DIAGNOSZTIKAI HASZNÁLATRA

Cikkszám: 20028871

## Rendeltetészerű használat

Az Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklus) olyan reagenseket és fogyóeszközöket tartalmaz, amelyek a validált vizsgálatok elvégzésekor a mintakönyvtárak szekvenálására használhatók. A készlet a NextSeq 550Dx berendezéssel és analitikai szoftverrel használható.

## Az eljárás működési elve

A NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklus) a NextSeq 550Dx berendezésen végzett szekvenáláshoz szükséges, egyszer használatos reagenseket és fogyóeszközöket tartalmaz. A NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklus) készlettel végzett szekvenáláshoz olyan, DNS-ből készült könyvtárakat kell hozzáadni, amelyek amplifikált célszekvenciákat, mintaindexeket és befogási szekvenciákat tartalmaznak. A mintakönyvtárak rögzítése áramlási cellán, a szekvenálás pedig szintézis általi szekvenálást (SBS) alkalmazó berendezéssel történik. Az SBS-kémia „reversible-terminator” módszert alkalmaz a fluoreszcens módon megjelölt, a növekvő DNS-szálakba beépített egyszeres nukleotidbázisok azonosítására. A mintakönyvtárak száma az upstream könyvtár-előkészítési módszer által támogatott multiplexeléstől függ.

A NextSeq 550Dx berendezés csomagjában található tájékoztató tartalmazza a NextSeq 550Dx berendezésen végzett szekvenáláshoz szükséges lépéseket.

A NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklus) teljesítményjellemzői és az eljárás korlátai a Local Run Manager Germline és Somatic variánsazonosító modulokkal lettek meghatározva.

## Az eljárás korlátai

- 1 *In vitro* diagnosztikai használatra.
- 2 A 25 bázispárnál hosszabb indeleket (inszerció, deléció vagy ezek kombinációja) tartalmazó kiolvasásokat a vizsgálati szoftver nem illeszti. Ezért a vizsgálati szoftver nem képes azonosítani a 25 bázispárnál hosszabb indeleket.
- 3 Előfordulhat, hogy a vizsgálati szoftver nem képes illeszteni a szokásostól eltérő tartalmú amplikonkiolvasásokat, amelynek hatására a régiót a rendszer vad típusúnak tekinti. Az ilyen szokásostól eltérő tartalmak a következők:
  - ▶ Háromnál több indelt tartalmazó kiolvasások
  - ▶ Olyan kiolvasások, amelyek legalább 30 bázispár hosszúak, és az egynukleotid-variáns (SNV) tartalmuk a teljes amplikon (a szondarégiók nélkül) célhosszának több mint 4%-a
  - ▶ 30 bázispárnál rövidebb kiolvasások, amelyek SNV-tartalma az amplikon teljes hosszának (a szondarégiókkal együtt) több mint 10%-a
- 4 Előfordulhat, hogy a rendszer a nagy méretű variánsokat (ideértve a multinukleotid variánsokat és a nagy méretű indeleket) kisebb, különálló variánsokként tünteti fel a kimeneti VCF-fájlban.
- 5 Azok a deléciós variánsok, amelyeknél két átfedésben lévő amplikon esetén a deléció hossza legalább akkora, mint az átfedés mértéke, kimutatásra kerülhetnek, vagy kimaradhatnak

- 6 A rendszer nem tudja detektálni azokat az indeleket, amelyek közvetlenül a primer mellett találhatóak, és nincsenek az illető szakasszal átfedésben lévő ampikonok. Átfedésben lévő ampikonokat tartalmazó régiók esetén a vizsgálat nem tudja kimutatni a deléciókat, ha az átfedés mérete kisebb, mint a kimutatandó deléció mérete. Ha például a két szomszédos ampikon közötti átfedési régió két bázispár, a vizsgálat nem tudja kimutatni a mindkét bázist érintő deléciókat. A rendszer e bázisok közül bármelyik egynukleotid-delécióját ki tudja mutatni.
- 7 A többi hibridizáción alapuló könyvtár-előkészítési munkafolyamathoz hasonlóan az oligonukleotid-kötő régiókban meglévő polimorfizmusok, mutációk, inszerciók vagy deléciók hatással lehetnek a vizsgált allélokra és így a szekvenálás alapján végzett azonosításokra. Például:
  - ▶ A primer régióban található variánssal egy fázisban lévő variáns esetén előfordulhat, hogy a rendszer nem tudja amplifikálni a variánst, ami álnegatív eredményt okozhat.
  - ▶ A primer régióban lévő variánsok megakadályozhatják a referenciaallél amplifikációját, ami helytelenül homozigóta variáns azonosítást eredményez.
  - ▶ A primer régióban lévő indelvariánsok álpozitív azonosítást eredményezhetnek a primer melletti végnél.
- 8 Az indelek a szá irányeltérés alapján kiszűrhetők, ha egy kiolvasás végénél következnek be, és szoftveres levágásra kerültek az illesztés során.
- 9 A kis méretű multinukleotid variánsok kimutatása nincs validálva, és a rendszer csak a Somatic variánsazonosító modulban jelenti azokat.
- 10 A deléciókat a VFC formátuma szerint a rendszer a megelőző bázis koordinátájánál jelenti a VCF-fájlban. Ebből következően ellenőrizze a szomszédos variánsokat, mielőtt azt állapítaná meg, hogy egy adott bázis homozigóta-referencia.
- 11 Csak a Germline típusra vonatkozó korlátozások:
  - ▶ A NextSeq 550Dx berendezéshez készült Local Run Manager Germline variánsazonosító modult alkalmazó NextSeq 550Dx berendezés a csírvonalbeli variánsok azonosítása kvalitatív eredményének a meghatározására szolgál (pl. homozigóta, heterozigóta, vad típus).
  - ▶ A Germline variánsazonosító modullal használva a pontos variánsazonosításhoz szükséges minimális ampikononkénti lefedettség 150x. Tehát legalább 150, ezt alátámasztó DNS-fragmentum szükséges, ami 300 egymást átfedő páros végű kiolvasással egyenértékű. A minták száma és a célbázisok összes száma hatással van a lefedettségre. A GC-tartalom és egyéb genomialis tartalmak hatással lehetnek a lefedettségre.
  - ▶ A kópiaszám-variáció befolyásolhatja, hogy a rendszer egy adott variánst homozigótának vagy heterozigótának azonosít.
  - ▶ Bizonyos repetitív kontextusban lévő variánsok ki vannak szűrve a VCF-fájlokban. Az RMxN ismétlési szűrő az olyan variánsok szűrésére szolgál, amelyeknél a variáns szekvencia egésze vagy egy része ismétlődően jelen van a variáns pozíciója melletti referenciagenomban. A csírvonalbeli variáns azonosítása esetén legalább kilenc ismétlés szükséges a referenciában ahhoz, hogy a variáns szűrhető legyen, amelybe csak az 5 bázispárnál hosszabb ismétlődések (R5x9) számítanak bele.
  - ▶ Egy adott lókuszon található indel és SNV esetén előfordulhat, hogy a rendszer csak egy variánst jelent.
- 12 Csak a Somatic típusra vonatkozó korlátozások:
  - ▶ A NextSeq 550Dx berendezéshez készült Local Run Manager Somatic variánsazonosító modult használó NextSeq 550Dx berendezés a szomatikus variánsok azonosítása kvalitatív eredményének a meghatározására szolgál (például  $\geq 0,026$  variánsgyakoriságú szomatikus variánsok jelenléte esetén, 0,05 detektálási határérték mellett).
  - ▶ A Somatic variánsazonosító modullal használva a pontos variánsazonosításhoz szükséges minimális ampikononkénti lefedettség oligonukleotid készletenként 450x. Ennek eredményeképp 450 ezt alátámasztó DNS-fragmentum szükséges oligonukleotid készletenként, amely 900 egymást átfedő páros végű kiolvasással egyenértékű. A minták száma és a célbázisok összes száma hatással van a lefedettségre. A GC-tartalom és egyéb genomialis tartalmak hatással lehetnek a lefedettségre.
  - ▶ A szomatikus variánsok azonosítása esetén legalább hat ismétlés szükséges a referenciában ahhoz, hogy a variáns szűrhető legyen, amelybe csak a 3 bázispárnál hosszabb ismétlődések (R3x6) számítanak bele.
  - ▶ A Somatic variánsazonosító modul nem képes különbséget tenni a csírvonalbeli és a szomatikus variánsok között. A modul széles variánsgyakoriság-tartományban képes a variánsok azonosítására, de a variánsgyakoriság nem használható a szomatikus és a csírvonalbeli variánsok egymástól való elkülönítésére.

- ▶ A mintában lévő normál szövet hatással van a variánsok detektálására. A detektálási limit a tumorszövetből és a normál szövetből kivont összes DNS-sel arányos variánsgyakoriságon alapul.

## A reagenskészlet komponensei

A NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklus) egyes komponensei különálló dobozban kerülnek forgalomba. Azonnal tárolja el a komponenseket a jelzett hőmérsékleten, ezzel biztosítva a megfelelő teljesítményt. A következő lista a reagenskészlet komponenseit tartalmazza.

1. táblázat: A reagenskészlet komponensei

Komponens	Darab	Töltési térfogat	Leírás	Tárolás*
NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 ciklus)	1 mindegyikben	Eltérő	Reagensok klaszterezése és szekvenálása	-25 °C és -15 °C között
NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 ciklus)	1 mindegyikben	Eltérő	Pufferek és mosóoldat	15 °C és 30 °C között
NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 ciklus)	1 mindegyikben	N.a.	Egyszer használatos, páros végű, üveg áramlási cella	2 °C és 8 °C között
NextSeq 550Dx kiegészítőket tartalmazó doboz (300 ciklus)	1 kémcső	12 ml	Könyvtárhígító puffer	-25 °C és -15 °C között

\*NextSeq 550Dx High Output Reagent v2.5 (300 ciklus) készletek kiszállítása szobahőmérsékleten történik.

## Lotszámok

A reagenskészlet egyetlen lotszámmal rendelkezik, amelyet a reagenskészlet lotszámának nevezünk. A reagenskészletben található minden egyes dobozra rá van nyomtatva a reagenskészlet lotszáma. A dobozokban lévő reagenskészlet-komponensekre komponensspecifikus lotszámok vannak nyomtatva, amelyek eltérnek a reagenskészlet lotszámától. A szekvenálásra szolgáló fogyóeszközöket egészen addig tartsa a dobozukban, amíg fel nem használja őket, ezzel biztosítva, hogy azok a megfelelő lothoz tartozzanak. A reagens cikkszámával és lotszámaival kapcsolatos információkért tekintse meg a reagenskészlet Analízistanúsítványát.

## Tárolás és kezelés

- 1 A szobahőmérséklet a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet jelenti.
- 2 A reagenskészlet komponenseinek szállítása kontrollált hőmérsékleten történik, és a megadott hőmérsékleten történő tárolás esetén a címkén feltüntetett lejárat napig stabilak.
- 3 A NextSeq 550Dx kiegészítőket tartalmazó doboz és a NextSeq 550Dx reagenskazetta a megadott lejárat dátum előtt legfeljebb egy alkalommal olvasható fel. A reagenskazetta a szobahőmérsékletű vízfürdőben való felolvasztást követően legfeljebb 6 órán át használható. Alternatív megoldásként a reagenskazetta 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten felolvasztva akár 5 napig is felhasználható.
- 4 A reagens fizikai jellemzőinek a megváltozása az anyagok romlását jelzi. Ha a fizikai jellemzők a keverést követően változnak meg, pl. a reagens színe jól látható módon megváltozik, vagy az oldat opállossá válik, amelyben mikrobiológiai szennyeződések láthatók, ne használja a reagensket.

## Szükséges, de külön értékesített eszközök és anyagok

- ▶ NextSeq 550Dx berendezés, cikkszám: 20005715

## Figyelmeztetések és óvintézkedések



### FIGYELEM!

Az Egyesült Államok szövetségi törvényeinek értelmében az eszköz csak orvos számára, illetve orvos vagy egyéb olyan egészségügyi dolgozó megrendelésére értékesíthető, aki számára a működési állam törvényei lehetővé teszik az eszköz használatát.

- 1 A NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 ciklus) potenciálisan veszélyes vegyszereket tartalmaz. Belélegzésük, lenyelésük, bőrrel érintkezésük és szembe kerülésük esetén személyi sérülést okozhatnak. Viseljen védőfelszerelést, így védőszemüveget, kesztyűt és laborköpenyt a kockázat mértékének megfelelően. A használt reagenseket vegyi hulladékként kezelje, és a regionális, országos és helyi törvényeknek és előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa.
- 2 A környezetvédelmi és munkavédelmi információkért tekintse meg a biztonsági adatlapot (SDS) a [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html) weboldalon.
- 3 Az eljárások leírtaktól eltérő módon történő végrehajtása hibás eredményeket eredményezhet, vagy jelentős mértékben csökkentheti a minta minőségét.
- 4 Használja a rutinszerű laboratóriumi óvintézkedéseket. Ne pipettázzon szájjal. Ne étkezzon, igyon vagy dohányozzon a munkaterületként megjelölt területeken. A minták és a vizsgálati reagensek kezelésekor viseljen eldobható kesztyűt és laborköpenyt. A minták és a vizsgálati reagensek kezelését követően alaposan mosson kezet.
- 5 A reagensek, a berendezés és a genomiális DNS-minták PCR-termékekkel való szennyeződésének elkerülése érdekében minden esetben kövesse a megfelelő laboratóriumi gyakorlatokat és a jó laboratóriumi higiéniaét. A PCR-szennyezés pontatlan vagy nem megbízható eredményekhez vezethet.
- 6 A szennyeződés elkerülése érdekében biztosítsa, hogy az elő- és utóamplifikálási területeken az adott célra kijelölt eszközök (pl. pipetták, pipettahegyek, kémcsőkeverők és centrifugák) legyenek.

## Használati útmutató

Tekintse meg a *NextSeq 550Dx berendezés* csomagjában található tájékoztatót és a megfelelő referencia-útmutatókat.

## Teljesítményjellemzők

Tekintse meg a *NextSeq 550Dx berendezés* csomagjában található tájékoztatót.

## Szabadalmak és védjegyek

A jelen dokumentum és annak tartalma az Illumina, Inc. és annak leányvállalatai („Illumina”) tulajdonát képezi, és kizárólag a jelen dokumentumban ismertetett termék(ek) szerződésszerű működtetéséhez használható. Egyéb célokra nem használható. A dokumentum és annak tartalma az Illumina előzetes írásos engedélye nélkül ettől eltérő célokra nem használható és forgalmazható, továbbá semmilyen formában nem kommunikálható, hozható nyilvánosságra vagy reprodukálható. Az Illumina a jelen dokumentummal nem biztosít licenct a termék vásárlójának a harmadik felek szabadalmi, védjegyjogi, szerzői jogi, szakásjogi vagy egyéb oltalom alatt álló jogosultságaihoz.

A jelen dokumentumban szereplő utasításokat a kvalifikált és megfelelően képzett személyzetnek szigorúan be kell tartania az itt ismertetett termék(ek) megfelelő és biztonságos használata érdekében. A termék(ek) használata előtt a felhasználó köteles átolvasni és értelmezni a jelen dokumentumban leírtakat.

AZ ITT SZEREPLŐ INFORMÁCIÓK ELOLVASÁSÁNAK VAGY AZ UTASÍTÁSOK BETARTÁSÁNAK ELMULASZTÁSA ESETÉN A TERMÉK (EK) MEGSÉRÜLHETNEK, ILLETVE SZEMÉLYI SÉRÜLÉS KÖVETKEZHET BE, IDEÉRTVE A FELHASZNÁLÓKAT ÉS MÁSOKAT IS, ILLETVE EGYÉB ANYAGI KÁROK KÖVETKEZHETNEK BE. EZENFELÜL ILYEN ESETEKBE A TERMÉK(EK)RE VONATKOZÓ GARANCIA ÉRVÉNYÉT VESZTI.

AZ ILLUMINA SEMMIFÉLE FELELŐSSÉGET NEM VÁLLAL AZ ITT BEMUTATOTT TERMÉK(EK) HELYTELEN HASZNÁLATÁBÓL FAKADÓ KÁROKÉRT (AZ ALKATRÉSZEKET ÉS A SZOFTVERT IS IDEÉRTVE).

© 2021 Illumina, Inc. Minden jog fenntartva.

Minden védjegy az Illumina, Inc., illetve az adott tulajdonosok tulajdonát képezi. A védjegyekkel kapcsolatos információkat lásd a [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html) oldalon.

## Elérhetőségek



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (Észak-Amerikán kívül)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



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

### Ausztrál szponzor

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

## Termékcímke

A termék csomagolásán és címkéjén található szimbólumokkal kapcsolatos további információkért tekintse meg az Ön készletére vonatkozó, a [support.illumina.com](http://support.illumina.com) weboldalon elérhető *Dokumentáció és irodalom* című lap Szimbólumok magyarázata című részét.