

ערכת מגיבים בתפוקה גבוהה NextSeq™ 550Dx גרסה 2.5 (300 מחזורים)

לאבחון חוץ-גופי בלבד

מק"ט 20028871

השימוש הייעודי

ערכת המגיבים בתפוקה גבוהה NextSeq 550Dx גרסה 2.5 (300 מחזורים) מבית Illumina היא ערכה של מגיבים וחומרים מתכלים המיועדים לריצוף ספריות דגימה כאשר משתמשים בהם עם תבחינים מאומתים. הערכה מיועדת לשימוש עם המכשיר NextSeq 550Dx ועם תוכנת ניתוח.

עקרונות ההליך

ערכת המגיבים בתפוקה גבוהה NextSeq 550Dx גרסה 2.5 (300 מחזורים) היא ערכת מגיבים וחומרים מתכלים המיועדת לשימוש חד-פעמי לריצוף במכשיר NextSeq 550Dx. בתור קלט, ערכת המגיבים בתפוקה גבוהה NextSeq 550Dx גרסה 2.5 (300 מחזורים) משתמשת בספריות שנוצרות מ-DNA שבהן אינדקסים של דגימות ורצפי לכידות מתווספים אל יעדים שעוברים הגברה. ספריות הדגימה נלכדות בתא זרימה ועוברות ריצוף במכשיר, על-ידי שימוש בכימיית ריצוף באמצעות סינתזה (SBS). כימיית SBS משתמשת בשיטת טרמינטור-הפיך כדי לזהות בסיסי נוקלאוטידים יחידים המסומנים בתוויות פלואורסצנטיות כאשר הם משתלבים בגדילי DNA שצומחים. מספר ספריות הדגימה תלוי בריבוב שבו תומכת שיטת הכנת הספריות שבמעלה הזרם. עלון המוצר מכשיר NextSeq 550Dx מספק הוראות לביצוע ריצוף במכשיר NextSeq 550Dx. מאפייני הביצועים ומגבלות ההליך של ערכת המגיבים בתפוקה גבוהה NextSeq 550Dx גרסה 2.5 (300 מחזורים) נקבעו באמצעות מודולי שורת נבט ווריאנט סומטי של Local Run Manager.

מגבלות ההליך

- 1 לאבחון חוץ גופי בלבד.
- 2 קריאות עם תהליכי indel (הוספות, מחיקות או שילובים) שבהם אורך התכולה הוא < 25 צמדי בסיסים (bp) אינן מתואמות עם תוכנת התבחין. כתוצאה מכך, תהליכי indel באורך של < 25 צמדי בסיסים אינם מזוהים על-ידי תוכנת התבחין.
- 3 ייתכן שתוכנת התבחין אינה תואמת לקריאות אמפליקון עם תכולה קיצונית, כך שהאזור מדווח בתור טיפוס בר. מספר דוגמאות לתכולה קיצונית מסוג זה:
 - ◀ קריאות המכילות יותר משלושה תהליכי indel
 - ◀ קריאות באורך של לפחות 30 צמדי בסיסים עם תכולת וריאנט נוקלאוטיד יחיד (SNV) של $< 4\%$ מאורך יעד האמפליקון הכולל (לא כולל אזורי בדיקה)
 - ◀ קריאות באורך של > 30 צמדי בסיסים עם תכולת SNV של $< 10\%$ מאורך האמפליקון הכולל (כולל אזורי בדיקה)
- 4 וריאנטים גדולים, לרבות וריאנטים מרובי-נוקלאוטידים (MNV) ותהליכי indel גדולים, עשויים להיות מדווחים כווריאנטים קטנים יותר ונפרדים בקובץ ה-VCF המופק.
- 5 ייתכן שווריאנטים של מחיקה יסוננו או יושמטו בעת פרישה (spanning) של שני רכיבי אמפליקון מרוצפים, כאשר אורך קטע המחיקה שווה לחפיפה בין רכיבי האמפליקון המרוצפים או גדול מחפיפה זו.
- 6 המערכת אינה מסוגלת לזהות תהליכי indel כאשר הם מתרחשים ישירות בסמוך לתחל וכשאינן אמפליקון חופף. עבור אזורים עם רכיבי אמפליקון חופפים, התבחין לא מסוגל לזהות מחיקות כאשר אזור החפיפה קטן יותר מגודל המחיקה שיש לזהות. לדוגמה, אם אזור החפיפה בין שני רכיבי אמפליקון סמוכים הוא שני בסיסים, התבחין לא יכול לזהות אף מחיקה שכוללת את שני הבסיסים הללו. מחיקה בעלת בסיס יחיד באחד מהבסיסים הללו כן ניתנת לזיהוי.
- 7 כפי שנעשה בכל תהליך להכנת ספריות מבוססת-הכלאה, כל מצבי הפולימורפיזם, המוטציות, ההוספות והמחיקות הבסיסיים שנמצאים באזורים שמאגדים אוליגונוקלאוטידים עשויים להשפיע על האללים הנבדקים, וכתוצאה מכך על הקישורים שמבוצעים במהלך הריצוף. לדוגמה:

- ◀ ייתכן שווריאנט בפאזה עם וריאנט באזור התחל לא יעבור הגברה, כך שתתקבל תוצאה שלילית שגויה.
- ◀ וריאנטים באזור התחל עשויים למנוע את ההגברה של אלל הייחוס, כך שיתקבל קישור שגוי בין וריאנטים הומוזיגוטיים.
- ◀ וריאנטים של indel באזור התחל עשויים לגרום לקישור חיובי שגוי בסוף הקריאה הסמוכה לתחל.
- 8 תהליכי indel עשויים להיות מסוננים עקב הטיית גדיל, אם הם מתרחשים ליד הקצה של קריאה אחת ועוברים קטיעה רכה במהלך התיאום.
- 9 וריאנטי MNV קטנים לא אומתו ומדווחים רק במודול וריאנט סומטי.
- 10 מחיקות מדווחות ב-VCF בקואורדינטה של הבסיס הקודם, לפי תבנית ה-VCF. לפיכך, יש לקחת בחשבון את הווריאנטים הסמוכים לפני שמדווחים שקישור מסוים בין בסיסים הוא ייחוס הומוזיגוטי.
- 11 מגבלות הספציפיות לשורת הנבט:
 ◀ המכשיר NextSeq 550Dx, כשהוא בשימוש עם מודול וריאנט שורת הנבט של Local Run Manager עבור NextSeq 550Dx, מתוכנן לספק תוצאות איכותניות המעידות על אופי הקישור בין וריאנטי שורת הנבט (למשל הומוזיגוטי, הטרזיגוטי, טיפוס בר).
 ◀ כאשר משתמשים בו עם מודול וריאנט שורת הנבט, כיסוי המינימום הנדרש עבור כל אמפליקון לצורך קבלת קישור וריאנטים מדויק הוא 150x. כתוצאה מכך נדרשים 150 מקטעי DNA תומכים, ואלה שווי-ערך ל-300 קריאות חופפות עם קצה משויר. מספר הדגימות והמספר הכולל של בסיסים שבהם נעשה מיקוד משפיעים על הכיסוי. תוכן ה-GC ותוכן גנומי אחר עשויים להשפיע על הכיסוי.
 ◀ וריאציה במספר העותק עשויה להשפיע על זיהוי של וריאנט כהומוזיגוטי או הטרזיגוטי.
 ◀ וריאנטים בהקשר חזרתי מסוים מסוננים אל מחוץ לקובצי ה-VCF. מסנן החזרה RMaxN משמש כדי לסנן וריאנטים כאשר רצף הווריאנטים, במלואו או בחלקו, נוכח באופן שחוזר על עצמו בגנום הייחוס, בסמוך למיקום הווריאנט. במקרה של קישור בין וריאנטים בשורת נבט, נדרשות בייחוס לפחות תשע חזרות כדי שווריאנט מסוים יסונן, ויילקחו בחשבון רק חזרות באורך של עד 5 bp (R5x9).
- 12 מגבלות הספציפיות לווריאנטים סומטיים:
 ◀ המכשיר NextSeq 550Dx, כשהוא בשימוש עם מודול הווריאנט הסומטי של Local Run Manager עבור NextSeq 550Dx, מתוכנן לספק תוצאות איכותניות המעידות על אופי הקישור בין וריאנטים סומטיים (למשל הימצאות וריאנט סומטי עם תדירות וריאנט של $0.026 \leq$ וגבול זיהוי של 0.05).
 ◀ כאשר משתמשים בו עם מודול הווריאנט הסומטי, כיסוי המינימום הנדרש עבור כל אמפליקון לצורך קבלת קישור וריאנטים מדויק הוא 450x לכל מאגר אוליגונוקלאוטידים. כתוצאה מכך, עבור כל מאגר אוליגונוקלאוטידים נדרשים 450 מקטעי DNA תומכים, ואלה שווי-ערך ל-900 קריאות חופפות עם קצה משויר. מספר הדגימות והמספר הכולל של בסיסים שבהם נעשה מיקוד משפיעים על הכיסוי. תוכן ה-GC ותוכן גנומי אחר עשויים להשפיע על הכיסוי.
 ◀ במקרה של קישור בין וריאנטים סומטיים, נדרשות בייחוס לפחות שש חזרות כדי שהווריאנט יסונן, ויילקחו בחשבון רק חזרות באורך של עד 3 bp (R3x6).
 ◀ מודול הווריאנט הסומטי אינו מסוגל להבחין בין וריאנטי שורת נבט ווריאנטים סומטיים. המודול תוכנן לזהות וריאנטים על טווח של תדירויות וריאנטים, אולם תדירות וריאנט לא יכולה לשמש כדי להבחין בין וריאנטים סומטיים ווריאנטים של שורת נבט.
 ◀ רקמה נורמלית בדגימה משפיעה על זיהוי הווריאנטים. גבול הזיהוי המדווח מבוסס על תדירות וריאנט, שהיא יחסית לשה"כ ה-DNA שחולץ הן מהגידול והן מהרקמה הנורמלית.

רכיבי ערכת המגיבים

כל רכיב בערכת המגיבים בתפוקה גבוהה NextSeq 550Dx גרסה 2.5 (300 מחזורים) מסופק באריזה נפרדת. אחסון בהקדם את הרכיבים בטמפרטורה שצוינה כדי להבטיח ביצועים הולמים. להלן רשימת רכיבי ערכת המגיבים.

טבלה 1 רכיבי ערכת המגיבים

רכיב	כמות	נפח מילוי	תיאור	אחסון*
מחסנית מגיבים בתפוקה גבוהה NextSeq 550Dx גרסה 2 (300 מחזורים)	1 בכל יחידה	משתנה	מגיבים ליצירת אשכולות וריצוף	-25°C עד -15°C
מחסנית בופר NextSeq 550Dx גרסה 2 (300 מחזורים)	1 בכל יחידה	משתנה	בופרים ותמיסת שטיפה	15°C עד 30°C

רכיב	כמות	נפח מילוני	תיאור	אחסון*
מחסנית תא זרימה בתפוקה גבוהה NextSeq 550Dx גרסה 2.5 (300 מחזורים)	1 בכל יחידה	לא רלוונטי	תא זרימה מזכוכית לשימוש יחיד, בעל קצה משויך	2°C עד 8°C
קופסת אביזרים של NextSeq 550Dx (300 מחזורים)	מבחנה אחת	12 מ"ל	בופר דילול ספרייה	-15°C עד -25°C

* מחסנית תא הזרימה בתפוקה גבוהה NextSeq 550Dx גרסה 2.5 (300 מחזורים) נשלחת בטמפרטורת הסביבה.

מספרי אצוות

לערכת המגיבים יש מספר אצווה יחיד, אשר מכונה מספר האצווה של ערכת המגיבים. על כל קופסה בערכת המגיבים מודפס מספר האצווה של ערכת המגיבים. על רכיבי ערכת המגיבים שנמצאים בתוך הקופסאות מודפסים מספרי אצוות ספציפיים לרכיבים, אשר שונים ממספר האצווה של ערכת המגיבים. כדי לשמור על הקישור בין האצוות והערכות, שמור על החומרים המתכלים לריצוף כאשר הם מאוחסנים באריזותיהם עד שיהיו מוכנים לשימוש. לקבלת פרטים על מספרי החלקים של המגיבים ומספרי האצוות, עיין באישור הניתוח של ערכת המגיב.

אחסון וטיפול

- 1 טמפרטורת החדר מוגדרת כטווח שבין 15°C ו-30°C.
- 2 רכיבי ערכת המגיבים שומרים על יציבות כאשר הם מאוחסנים בטמפרטורות האחסון שצוינו, עד תאריך התפוגה המופיע על התווית.
- 3 קופסת האביזרים של NextSeq 550Dx ומחסנית המגיבים של NextSeq 550Dx שומרות על יציבות למקסימום הפשרה אחת לטמפרטורת החדר, לפני תאריך התפוגה המפורט. מחסנית המגיבים שומרת על יציבות למשך 6 שעות לכל היותר כאשר מפשירים אותה באמבט מים בטמפרטורת החדר. לחלופין, ניתן להפשיר את מחסנית המגיב בטמפרטורות של 2°C עד 8°C למשך 5 ימים לכל היותר, לפני השימוש.
- 4 שינויים במראה הפיזי של המגיבים עשויים להעיד על הידרדרות של החומרים. אם מופיעים שינויים במראה הפיזי לאחר הערבוב, למשל שינויים ניכרים בצבע המגיב, או עכירות האופיינית לזיהום מיקרוביאלי, אין להשתמש במגיבים.

ציוד וחומרים דרושים, נמכרים בנפרד

◀ מכשיר NextSeq 550Dx, מק"ט 20005715

אזהרות ואמצעי זהירות

זהירות



- על-פי החוק הפדרלי, מכירת מכשיר זה מותרת רק לרופא או בהוראתו וכן לכל איש רפואה אחר אשר מחזיק ברישיון להשתמש במכשיר או להורות על השימוש בו בהתאם לחוק המדינה שבה הוא עובד.
- 1 ערכת המגיבים בתפוקה גבוהה NextSeq 550Dx גרסה 2.5 (300 מחזורים) מכילה חומרים כימיים שעלולים להיות מסוכנים. שאיפה, בליעה, ומגע עם העור או העיניים עלולים לגרום לפגיעה גופנית. השתמש בציוד מגן, הכולל מגן לעיניים, כפפות, וחלוק מעבדה בהתאם לסיכון החשיפה. טפל במגיבים המשומשים כפי שמטפלים בפסולת כימית והשלך אותם בהתאם לחוקים ולתקנות האזוריים, הלאומיים והמקומיים החלים במקרים אלה.
 - 2 לקבלת מידע על סביבה, בריאות ובטיחות, עיין בגיליון הבטיחות (SDS) שבכתובת support.illumina.com/sds.html.
 - 3 על כל תקרית חמורה הקשורה למוצר זה יש לדווח מיידית לחברת Illumina ולרשויות המתאימות במדינות החברות שבהן נמצאים המשתמש והמטופל.
 - 4 אי-הקפדה על הנהלים המפורטים עלולה להוביל לקבלת תוצאות שגויות או לירידה משמעותית באיכות הדגימה.
 - 5 השתמש באמצעי הזהירות השגרתיים הנהוגים במעבדה. אין למלא/לרוקן פיפטות בעזרת הפה. אין לאכול, לשתות או לעשן באזורי העבודה המיועדים. בעת הטיפול בדגימות ובמגיבי התבחינים יש להשתמש בכפפות חד-פעמיות ובחלוקי מעבדה. שטוף את הידיים היטב לאחר הטיפול בדגימות ובמגיבי התבחינים.

- 6 כדי למנוע מתוצרי ה-PCR לזהם את המגיבים, המכשור ודגימות ה-DNA הגנומי, יש להקפיד על שיטות עבודה נאותות במעבדה ועל היגיינת מעבדה נאותה. זיהום PCR עלול להוביל לקבלת תוצאות לא מדויקות ולא אמינות.
- 7 כדי למנוע זיהום, ודא שיש ציוד ייעודי (למשל פיפטות, קצוות פיפטות, מערבול וורטקס, וסרכזת) לאזורים שלפני ההגברה ולאחר ההגברה.

הוראות שימוש

עיין בעלון המוצר מכשיר NextSeq 550Dx ובמדריכי העיון הרלוונטיים.

מאפייני ביצועים

עיין בעלון המוצר מכשיר NextSeq 550Dx.

גרסאות קודמות

מסמך	תאריך	תיאור השינוי
מסמך מס' v03 1000000073349	נובמבר 2021	נוספה הצהרה על אזהרות ואמצעי זהירות בנוגע לדיווח על תקריות חמורות. נוספה טבלת מהדורות קודמות.

פטנטים וסימנים מסחריים

מסמך זה ותוכנו הם קניין של Illumina, Inc. והחברות המסונפות אליה (להלן: "Illumina"), והם מיועדים אך ורק לשימוש של הלקוח, בהתאם לתנאי החוזה, בהקשר של השימוש במוצרים המתוארים בזאת, ולא לשום מטרה אחרת. אין להשתמש במסמך זה ותוכנו ואין להפיצם לכל מטרה אחרת ו/או לשלוח, לחשוף או לשכפל אותם בשום צורה אחרת, ללא הסכמה מראש ובכתב מאת Illumina. במסמך זה, Illumina אינה מעניקה רישיון כלשהו לזכויות על פטנט, סימן מסחרי, זכות יוצרים או זכות חוקית או כל זכות אחרת, לשום צד שלישי.

כדי להבטיח שימוש הולם ובטוח במוצרים המתוארים בזאת, ההוראות שבמסמך זה חייבות להתבצע על-ידי עובדים שעברו הדרכה מתאימה וימלאו את ההוראות בצורה קפדנית ומפורשת. חובה לקרוא ולהבין את כל תוכנו של מסמך זה לפני השימוש במוצרים אלה.

איקריאת ההוראות המופיעות בזאת במלואן ואי-הקפדה עליהן עלולות לגרום לנזק למוצרים, לפגיעה גופנית של בני אדם - לרבות המשתמשים או אנשים אחרים, נזק לרכוש אחר, ויבטלו כל אחריות החלה על המוצרים.

ILLUMINA אינה מקבלת על עצמה שום חבות בגין שימוש בלתי הולם במוצרים המתוארים בזאת (לרבות חלקים מהם או התוכנה).
© 2021 Illumina, Inc. כל הזכויות שמורות.

כל הסימנים המסחריים הם רכושם של Illumina, Inc. או של בעליהם המתאימים. לקבלת מידע על סימן מסחרי ספציפי, בקר בכתובת www.illumina.com/company/legal.html.

פרטי יצירת קשר

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

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



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (מחוץ לאמריקה הצפונית)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

תוויות המוצר

לקבלת חומר עזר מלא בנוגע לסמלים שעשויים להופיע על אריזת המוצר והתוויות, עיין במפתח הסמלים של הערכה שלך בכתובת support.illumina.com.