

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

IN VITRO DIAGNOSZTIKAI HASZNÁLATRA

Katalógusszám: 20028871

## Rendeltetés

Az Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) készlet reagenseket és fogyóeszközöket tartalmazó készlet, amely mintakönyvtárak szekvenálására szolgál hitelesített vizsgálatokkal együtt. A készlet a NextSeq 550Dx készülékkel és elemzőszoftverrel való használatra szolgál.

## Az eljárás működési elve

A NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) egy speciális egyszer használatos reagens- és fogyóeszközökészlet a NextSeq 550Dx készüléken végzett szekvenáláshoz. A NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) termék használatához bemenetként DNS-ből elkészített könyvtárak szolgálnak, amelyek amplifikált célkönyvtárakat, mintaindexeket és befogószekvenciákat tartalmaznak. A készülék a mintakönyvtárakat egy áramlási cellában rögzíti, és szintézissel végzett szekvenálás (SBS) kémiai módszerrel szekvenálja. Az SBS során a fluoreszcensen jelölt egyes nukleotidbázisok kimutatása reverzibilis terminációs módszerrel történik, amint azok beépülnek a növekvő DNS-szálakba. A mintakönyvtárak száma a felfelé történő könyvtárkészítési módszer által támogatott multiplexeléstől függ.

A *NextSeq 550Dx készülék* terméktájékoztatója tartalmazza a NextSeq 550Dx készülékkel végzett szekvenálásra vonatkozó utasításokat.

A NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) termékkel végzett eljárás teljesítményjellemzőinek és az eljárás korlátainak a meghatározása a Local Run Manager csírvonalbeli és szomatikus variánsazonosító moduljának használatával történt.

## Az eljárás korlátai

- 1 *In vitro* diagnosztikai használatra.
- 2 A vizsgálati szoftver nem illeszti a > 25 bázispár (bp) hosszúságú indeleket (inzerciók, deléciók és ezek kombinációi) tartalmazó kiolvasásokat. Ezért a vizsgálati szoftver nem képes azonosítani a 25 bázispárnál hosszabb indeleket.
- 3 Előfordulhat, hogy a vizsgálati szoftver nem illeszti a szélsőséges tartalmú amplikonkiolvasásokat, és ezért a területet vad típusúként jelenti. Ilyen szélsőséges tartalomnak minősülnek a következők:
  - ▶ Több mint három indelt tartalmazó kiolvasások
  - ▶ Legalább 30 bp hosszúságú, a teljes amplikon (a próbaterületek kivételével) méretének > 4%-át kitevő egynukleotid-variánsokat (SNP) tartalmazó kiolvasások
  - ▶ A < 30 bp hosszúságú, a teljes amplikon méretének (a próbaterületekkel együtt) > 10%-át kitevő SNV-t tartalmazó kiolvasások
- 4 A nagy variánsok, beleértve a több nukleotidból álló variánsokat (MNV-k) és a nagy indelek, a kimeneti VCF-fájlban különálló kisebb variánsokként szerepelhetnek.
- 5 A deléciós variánsok kiszűrésre vagy kihagyásra kerülhetnek, ha több két, egymás melletti amplikonra terjednek ki, ha a deléció legalább olyan hosszú, mint a két amplikon közötti átfedés.

- 6 A rendszer nem tudja kimutatni a közvetlenül egy primer mellett elhelyezkedő indeleket, ha nincs átfedő amplikon. Az átfedő amplikonokat tartalmazó területeken a vizsgálat nem tudja kimutatni a deléciókat, ha az átfedési terület kisebb a kimutatandó deléció méreténél. Ha például két egymás melletti amplikon közötti átfedés két bázispár, a vizsgálat nem tudja kimutatni azokat a deléciókat, amelyek mindkét bázist tartalmazzák. A két bázis közül az egyik deléciója kimutatható.
- 7 Mint minden hibridizációs alapú könyvtár-előkészítési munkafolyamat esetén, az oligonukleotid-kötő területeket érintő polimorfizmusok, mutációk, inzerciók és deléciók befolyásolhatják a vizsgált allélokat és ezzel a szekvenálással kapott azonosításokat. Például:
  - ▶ Lehetséges, hogy a primer területén lévő, egy fázisban lévő variáns nem amplifikálódik, álnegatív eredményt okozva.
  - ▶ A primer területén elhelyezkedő variánsok megakadályozhatják a referenciaallél amplifikációját, ami helytelen homozigóta variáns azonosítást okozza.
  - ▶ A primer területén lévő indel variánsok a primer melletti kiolvasás álpozitív azonosítását okozhatják.
- 8 Előfordulhat az indelek kiszűrése, ha egy kiolvasás végéhez közel lépnek fel, és az illesztés során puha levágásra kerülnek.
- 9 A kis méretű MNV-k kimutatását nem hitelesítették, és ezek csak a szomatikus variáns modul jelentésében szerepelnek.
- 10 A VCF-ben a deléciók jelentése a VCF formátum szerinti megelőző bázis koordinátáján történik. Ezért vegye figyelembe a szomszédos variánsokat, mielőtt azt leleteznél, hogy egy egyedi bázisazonosítás homozigóta referencia.
- 11 Csak a csírvonal munkafolyamatra vonatkozó korlátozások:
  - ▶ A NextSeq 550Dx készülékhez készült Local Run Manager Germline variánsazonosító modult alkalmazó NextSeq 550Dx készülék a csírvonalbeli variánsok azonosítása kvalitatív eredményének a meghatározására szolgál (pl. homozigóta, heterozigóta, vad típus).
  - ▶ A Germline variánsazonosító modullal használva a pontos variánsazonosításhoz szükséges minimális amplikononkénti előfordulás 150x. Tehát legalább 150, ezt alátámasztó DNS-fragmentum szükséges, ami 300 egymást átfedő páros végű kiolvasással egyenértékű. A minták mérete és az összes vizsgált bázis száma befolyásolja ezt a másolatszámot. A GC-tartalom és más genomikus tartalmak befolyásolhatják a másolatszámot.
  - ▶ A másolatszám befolyásolhatja, hogy egy variáns homozigótaként vagy heterozigótaként kerül azonosításra.
  - ▶ Bizonyos, ismétlődő tartalmú környezetben található variánsok kiszűrésre kerülnek a VCF fájljából. Az RMxN ismétlési szűrő a variánsok kiszűrésére szolgál olyan esetekben, amikor a variáns szekvencia vagy annak egy része ismételten jelen van a variáns helyzete melletti referenciagenomban. A csírvonalbeli variánsok azonosítása esetén a referenciagenomban legalább kilenc ismétlődés szükséges a variáns kiszűréséhez, és csak legfeljebb 5 bp hosszúságú ismétlésekre vonatkozik (R5x9).
  - ▶ Ha egy indel és egy SNV egyazon helyen van, lehetséges, hogy a rendszer csak az egyik variánst jelenti.
- 12 Csak a szomatikus munkafolyamatra vonatkozó korlátozások:
  - ▶ A NextSeq 550Dx készülékhez készült Local Run Manager Somatic variánsazonosító modult használó NextSeq 550Dx készülék 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 amplikononkénti előfordulás oligonukleotid poolonként 450x. Ennek eredményeképp 450 ezt alátámasztó DNS-fragmentum szükséges oligonukleotid készletenként, amely 900 egymást átfedő páros végű kiolvasással egyenértékű. A minták mérete és az összes vizsgált bázis száma befolyásolja ezt a másolatszámot. A GC-tartalom és más genomikus tartalmak befolyásolhatják a másolatszámot.
  - ▶ A szomatikus variánsok azonosítása esetén a referenciagenomban legalább hat ismétlődés szükséges a variáns kiszűréséhez, és csak legfeljebb 3 bp hosszúságú ismétlésekre vonatkozik (R3x6).
  - ▶ A szomatikus variáns modul nem alkalmas a csírvonalbeli és a szomatikus variánsok elkülönítésére. A modul a gyakoriságok nagy tartományában előforduló variánsok kimutatására szolgál, azonban a variáns gyakorisága nem használható a szomatikus és a csírvonalbeli variánsok elkülönítésére.

- ▶ A mintában található egészséges szövetek befolyásolják a variánsok kimutatását. Az említett kimutatási határérték a daganatos szövetből és az egészséges szövetből kivont variáns és normál DNS gyakorisága közötti arányon alapul.

## A reagenskészlet összetevői

A NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) készlet mindegyik összetevője külön dobozba van csomagolva. Azonnal helyezze az összetevőket a megadott hőmérsékletű tárolóhelyre, hogy biztosítsa a megfelelő teljesítményt. Alább található a reagenskészlet összetevőinek felsorolása.

1. ábra: A reagenskészlet összetevői

Komponens	Darab	Térfogat	Leírás	Tárolás*
NextSeq 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (300 Cycles)	1 db	Többféle	Klaszterképzési és szekvenálási reagensek	-25 °C és -15 °C között
NextSeq 550Dx Buffer Cartridge v2 (300 Cycles)	1 db	Többféle	Pufferek és mosóoldat	15 °C és 30 °C között
NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 Cycles)	1 db	NA	Egyszer használatos, páros végű üveg áramlási cella	2 °C és 8 °C között
NextSeq 550Dx Accessory Box (300 Cycles)	1 cső	12 ml	Könyvtárhígítási puffer	-25 °C és -15 °C között

\*A NextSeq 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (300 Cycles) termék szobahőmérsékleten kerül szállításra.

## Tételszámok

A reagenskészletnek egyetlen tételszáma van, ez a reagenskészlet tételszáma. A reagenskészletben található mindegyik dobozra a reagenskészlet tételszáma van nyomtatva. A dobozokban található reagenskészlet-összetevőkre a reagenskészlet tételszámától eltérő tételszámok vannak nyomtatva. A készlet tételszámához tartozó összetevők együtt tartása érdekében a szekvenálási fogyóeszközöket tárolja a dobozukban, amíg készen nem áll a használatukra. A reagensek cikkszámaira és tételszámaira vonatkozó részletes adatok a reagenskészlet Elemzési tanúsítványában található.

## Tárolás és kezelés

- 1 A szobahőmérséklet a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet jelenti.
- 2 A reagenskészlet tartalma a megadott hőmérsékleten történő tárolás esetén a címkén feltüntetett lejárat dátumig stabil.
- 3 A NextSeq 550Dx tartozékdoboz és a NextSeq 550Dx reagenskassetta legfeljebb egyszer, a megadott lejárat idő előtt, szobahőmérsékleten olvasható fel. A szoba-hőmérsékletű vízfürdőben kiolvasztott reagenskassetta 6 óráig stabil. Másik lehetőségként a reagenskassetta felolvasható 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten, legfeljebb 5 nappal a használat előtt.
- 4 A reagensek fizikai jellemzőinek megváltozása az anyagok romlását jelezheti. Ne használjon olyan reagenst, amelynek a fizikai jellemzői megváltoznak az összekeverés után, például a színe jól látható módon megváltozik, vagy mikrobiológiai szennyeződésre utaló zavarosság látható.

## Szükséges, de külön értékesített eszközök és anyagok

- ▶ NextSeq 550Dx készülék, katalógusszám: 20005715

## Figyelmeztetések és óvintézkedések



### FIGYELEM!

Az USA szövetségi törvényei szerint e készülék csak orvos vagy az illető államban jóváhagyott szakember által vagy rendelvényére árusítható.

- 1 A NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles) készlet potenciálisan veszélyes vegyi anyagokat 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](https://support.illumina.com/sds.html) weboldalon.
- 3 A termékkel kapcsolatos súlyos eseményeket haladéktalanul jelentse az Illumina vállalatnak és a felhasználó és a páciens lakhelye szerinti tagállamok illetékes hatóságainak.
- 4 Az eljárások követésének elmulasztása hibás eredményeket vagy a minta minőségének jelentős romlását okozhatja.
- 5 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.
- 6 Megfelelő laboratóriumi gyakorlat és jó laboratóriumi higiénia szükséges annak megelőzéséhez, hogy a PCR-termékek szennyezzék a reagenseket, az eszközöket és a genomikus DNS-mintákat. A PCR-termékekkel való szennyeződés pontatlan és megbízhatatlan eredményeket okozhat.
- 7 A szennyeződés elkerülése érdekében ügyeljen arra, hogy az amplifikáció előtti és az azutáni területeken külön készülékek legyenek (például pipetták, pipettahegyek, vortexelő és centrifuga).

## Használati útmutató

Lásd a *NextSeq 550Dx készülék* terméktájékoztatóját és a megfelelő referencia-útmutatókat.

## Teljesítményjellemzők

Lásd a *NextSeq 550Dx készülék* terméktájékoztatóját.

## Módosítási előzmények

Dokumentum	Dátum	Módosítások leírása
1000000073349 sz. dokumentum v03	2021. november	Súlyos események jelentésével kapcsolatos nyilatkozat hozzáadása a Figyelmeztetések és óvintézkedések részhez. Módosítási előzményeket tartalmazó táblázat hozzáadása.

## 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, szokásjogi 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 ESETEK BEN 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

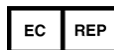
San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (Észak-Amerikán kívül)

[techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

[www.illumina.com](http://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 információk az Ön készletére vonatkozóan a [support.illumina.com](http://support.illumina.com) weboldalon, a Szimbólumok magyarázata részben található.