

Trousse de réactifs NextSeq^{MC} 550Dx à débit élevé v2 (300 cycles)

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT

N° de référence 20019554

Utilisation prévue

La trousse de réactifs NextSeq 550Dx à débit élevé v2 (300 cycles) d'Illumina est un ensemble de réactifs et de consommables conçu pour le séquençage de bibliothèques d'échantillons, à utiliser avec des tests validés. La trousse est prévue pour une utilisation avec l'instrument NextSeq 550Dx et un logiciel d'analyse.

Principes procéduraux

La trousse de réactifs NextSeq 550Dx à débit élevé v2 (300 cycles) est un ensemble de réactifs et de consommables à usage unique destiné au séquençage sur l'instrument NextSeq 550Dx. Au départ, la trousse de réactifs NextSeq 550Dx à débit élevé v2 (300 cycles) utilise des bibliothèques générées à partir d'ADN pour lesquelles des index d'échantillons et des séquences de saisie sont ajoutés à des cibles amplifiées. Les bibliothèques d'échantillons sont capturées sur la Flow Cell puis séquencées sur l'instrument à l'aide de la chimie de séquençage par synthèse (SBS). La chimie SBS utilise une méthode basée sur des terminateurs réversibles pour détecter les bases à simple nucléotide à marqueur fluorescent, à mesure qu'elles sont intégrées aux brins d'ADN croissants. Le nombre de bibliothèques d'échantillons dépend du multiplexage pris en charge par la méthode de préparation de bibliothèques en amont.

La notice d'accompagnement de l'*instrument NextSeq 550Dx* présente les instructions pour le séquençage sur l'instrument NextSeq 550Dx.

Les caractéristiques de performance et les limites de la procédure de la trousse de réactifs NextSeq 550Dx à débit élevé v2 (300 cycles) ont été établies au moyen du module d'analyse des variants germinaux et du module d'analyse des variants somatiques de Local Run Manager.

Limites de la procédure

- 1 Destiné au diagnostic *in vitro*.
- 2 Les lectures comportant des indels (insertions, délétions ou combinaison des deux) dont la longueur est supérieure à 25 paires de bases (pb) ne sont pas alignées par le logiciel de test. Par conséquent, les indels de plus de 25 pb ne sont pas détectables par le logiciel de test.
- 3 Il se peut que les lectures d'amplicons affichant un contenu extrême ne soient pas alignées par le logiciel de test, et que la région soit ainsi signalée comme étant de type sauvage. Les contenus extrêmes comprennent :
 - ▶ les lectures comportant plus de trois indels;
 - ▶ les lectures d'une longueur d'au moins 30 pb dont le contenu de variants à simple nucléotide (SNV) est supérieur à 4 % de la longueur totale d'amplicon cible (excluant les régions sondées);
 - ▶ les lectures d'une longueur inférieure à 30 pb dont le contenu SNV est supérieur à 10 % de la longueur totale d'amplicon (y compris les régions sondées).
- 4 Les variants importants, y compris les variants à multiples nucléotides (MNV) et les indels importants, peuvent être désignés comme plusieurs variants distincts de plus petite taille dans le fichier VCF de sortie.
- 5 Les variants de délétion peuvent être filtrés ou omis lorsqu'ils s'étendent sur deux amplicons qui se chevauchent, si la longueur de la délétion est supérieure ou égale au chevauchement entre les amplicons.

- 6 Le système ne peut détecter les indels s'ils sont directement adjacents à un primer et qu'il n'y a pas d'amplicons se chevauchant. Pour les régions contenant des amplicons de chevauchement, le test ne peut pas détecter des délétions lorsque la zone de chevauchement est plus petite que la délétion à détecter. Par exemple, si la région de chevauchement entre deux amplicons adjacents est de deux bases, le test ne détectera aucune délétion, pas même ces deux bases. Une délétion de base unique au niveau de l'une ou l'autre de ces bases peut être détectée.
- 7 Comme avec n'importe quel flux de travail de préparation de librairie de type hybridation, les polymorphismes, mutations, insertions ou délétions sous-jacents dans les régions de liaison d'un oligonucléotide peuvent affecter les allèles sondés et, par conséquent, les définitions obtenues durant le séquençage. Par exemple :
 - ▶ Un variant en phase avec un variant dans la région du primer peut ne pas être amplifié, ce qui entraîne un faux négatif.
 - ▶ Les variants dans la région du primer pourraient empêcher l'amplification de l'allèle de référence et entraîner une définition de variant homozygote erronée.
 - ▶ Les variants d'indels dans la région du primer peuvent entraîner un faux positif à la fin de la lecture adjacente au primer.
- 8 Les indels peuvent être filtrés en raison du biais de brin, s'ils se trouvent près de la fin d'une lecture et sont écrêtés doucement durant l'alignement.
- 9 Les petits MNV n'ont pas été validés et ne sont signalés que dans le module d'analyse des variants somatiques.
- 10 Les délétions sont signalées dans les fichiers VCF aux coordonnées de la base précédente, selon le format VCF. Par conséquent, il faut tenir compte des variants adjacents avant de déclarer qu'un appel de base est une référence homozygote.
- 11 Limites spécifiques au flux de travail germinaux :
 - ▶ L'instrument NextSeq 550Dx, lorsqu'il est utilisé avec le module d'analyse des variants germinaux de Local Run Manager pour NextSeq 550Dx, est conçu pour produire des résultats qualitatifs aux fins de la définition des variants germinaux (p. ex., homozygote, hétérozygote, type sauvage).
 - ▶ Lorsque le module d'analyse des variants germinaux est utilisé, la couverture minimale par amplicon requise pour obtenir une définition de variants précise est de 150x. Par conséquent, il faut 150 fragments d'ADN pris en charge, ce qui équivaut à 300 lectures appariées se chevauchant. Le nombre d'échantillons et le nombre total de bases ciblées ont une incidence sur la couverture. Le contenu génomique, notamment la teneur en GC, peut avoir une incidence sur la couverture.
 - ▶ La variation du nombre de copies peut déterminer si un variant est identifié comme étant homozygote ou hétérozygote.
 - ▶ Dans certains contextes répétitifs, les variants sont filtrés dans les fichiers VCF. Le filtre de répétitions RMxN sert à filtrer les variants lorsque la séquence du variant se retrouve, en totalité ou en partie, à répétition dans le génome de référence adjacent à la position du variant. En ce qui concerne la définition des variants germinaux, il faut qu'il y ait au moins neuf répétitions dans le génome de référence pour qu'un variant soit filtré, et seules les répétitions d'une longueur d'au plus 5 pb seront prises en compte (R5x9).
 - ▶ Si un indel et un SNV sont présents pour un même locus, il se peut qu'un seul variant soit détecté.
- 12 Limites spécifiques au flux de travail somatique :
 - ▶ L'instrument NextSeq 550Dx, lorsqu'il est utilisé avec le module d'analyse des variants somatiques de Local Run Manager pour NextSeq 550Dx, est conçu pour produire des résultats qualitatifs aux fins de la définition des variants somatiques (c.-à-d. présence d'un variant somatique dont la fréquence de variant est supérieure ou égale à 0,026, avec une limite de détection de 0,05).
 - ▶ Lorsque le module d'analyse des variants somatiques est utilisé, la couverture minimale par amplicon requise pour obtenir une définition de variants précise est de 450x par pool d'oligonucléotides. Par conséquent, il faut 450 fragments d'ADN pris en charge par pool d'oligonucléotides, ce qui équivaut à 900 lectures appariées se chevauchant. Le nombre d'échantillons et le nombre total de bases ciblées ont une incidence sur la couverture. Le contenu génomique, notamment la teneur en GC, peut avoir une incidence sur la couverture.
 - ▶ En ce qui concerne la définition des variants somatiques, il faut qu'il y ait au moins six répétitions dans le génome de référence pour qu'un variant soit filtré, et seules les répétitions d'une longueur d'au plus 3 pb seront prises en compte (R3x6).

- ▶ Le module d'analyse des variants somatiques ne peut distinguer les variants germinaux des variants somatiques. Le module est conçu pour détecter les variants dans une fourchette de fréquences de variant, mais elle ne peut servir à différencier les variants somatiques et germinaux.
- ▶ Le tissu normal dans l'échantillon a une incidence sur la détection des variants. La limite de détection indiquée est fondée sur une fréquence de variant relative à l'ADN total extrait des tissus tumoraux et normaux.

Composants de la trousse de réactifs

Chaque composant de la trousse de réactifs NextSeq 550Dx à débit élevé v2 (300 cycles) est fourni dans sa propre boîte. Rangez rapidement les composants à la température indiquée afin de garantir leur performance. Voici la liste des composants de la trousse de réactifs.

Tableau 1 Composants de la trousse de réactifs

Composant	Quantité	Volume de remplissage	Description	Stockage
Cartouche de réactifs NextSeq 550Dx à débit élevé v2 (300 cycles)	1 de chacun	Divers	Réactifs de génération d'amplifiats et de séquençage	-25 à -15 °C
Cartouche de tampon NextSeq 550Dx v2 (300 cycles)	1 de chacun	Divers	Tampons et solution de lavage	15 à 30 °C
Cartouche de Flow Cell NextSeq 550Dx à débit élevé v2 (300 cycles)	1 de chacun	s. o.	Flow Cell en verre à usage unique, à lecture appariée	2 à 8 °C
Boîte d'accessoires NextSeq 550Dx (300 cycles)	1 tube	12 ml	Tampon de dilution de librairie	-25 à -15 °C

Numéros de lot

La trousse de réactifs porte un numéro de lot unique, appelé numéro de lot de la trousse de réactifs. Le numéro de lot de la trousse de réactifs est imprimé sur chacune des boîtes de la trousse. Les composants de la trousse de réactifs qui se trouvent dans les boîtes portent également un numéro de lot qui leur est propre et qui est différent du numéro de lot de la trousse de réactifs. Conservez les consommables de séquençage dans leur boîte jusqu'à ce que vous soyez prêt à les utiliser, pour ne pas perdre le numéro de lot de la trousse. Reportez-vous au certificat d'analyse de la trousse de réactifs pour obtenir toutes les précisions utiles sur les numéros de référence et les numéros de lot des réactifs.

Stockage et manipulation

- 1 La température ambiante correspond à une température de 15 °C à 30 °C.
- 2 Les composants de la trousse de réactifs sont expédiés à température contrôlée et sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'ils sont entreposés aux températures de stockage indiquées.
- 3 La boîte d'accessoires NextSeq 550Dx et la cartouche de réactifs NextSeq 550Dx sont stables jusqu'à ce qu'ils soient décongelés à température ambiante, une fois au maximum, avant la date de péremption indiquée. La cartouche de réactifs est stable pendant un maximum de six heures lorsqu'elle est décongelée dans un bain d'eau à température ambiante. Vous pouvez également décongeler la cartouche de réactifs en la laissant à une température de 2 °C à 8 °C pendant un maximum de cinq jours avant son utilisation.
- 4 Les changements dans l'apparence physique des réactifs peuvent indiquer la détérioration des matières. Si des changements dans l'apparence physique se produisent une fois les réactifs mélangés, comme des changements apparents de la couleur des réactifs ou une trace de voile montrant une contamination microbienne, n'utilisez pas les réactifs.

Équipement et matériel requis, vendus séparément

- ▶ Instrument NextSeq 550Dx, n° de référence 20005715

Avertissements et précautions



ATTENTION

La loi fédérale américaine n'autorise la vente de ce dispositif que sur ordonnance ou par un médecin ou tout autre professionnel de la santé autorisé par la législation de l'État dans lequel il ou elle exerce à utiliser ou ordonner l'utilisation de cet appareil.

- 1 La trousse de réactifs NextSeq 550Dx à débit élevé v2 (300 cycles) contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des risques de lésions corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Portez un équipement de protection, y compris des lunettes, des gants et une blouse de laboratoire adaptée à l'exposition à ces risques. Traitez les réactifs usagés comme des déchets chimiques et éliminez-les conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur.
- 2 Pour plus de renseignements relatifs à la protection de l'environnement, à la santé et à la sécurité, consultez la fiche signalétique (SDS) à l'adresse support.illumina.com/sds.html.
- 3 Le non-respect des procédures décrites peut entraîner des résultats erronés ou une baisse considérable de la qualité des échantillons.
- 4 Utilisez les précautions habituelles en laboratoire. Ne pipettez pas avec la bouche. Ne mangez pas, ne buvez pas et ne fumez pas dans les zones de travail indiquées. Portez des gants jetables et des blouses de laboratoire lors de la manipulation des échantillons et des réactifs du test. Lavez-vous les mains soigneusement après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du test.
- 5 Les pratiques de laboratoire appropriées et une bonne hygiène dans le laboratoire sont nécessaires pour empêcher les produits PCR de contaminer les réactifs, les instruments et les échantillons d'ADN génomique. La contamination par des produits PCR peut causer des résultats erronés et non fiables.
- 6 Pour éviter la contamination, veillez à ce que les zones de préamplification et de postamplification aient des équipements réservés (p. ex., pipettes, pointes de pipette, agitateur et centrifugeuse).

Mode d'emploi

Voir la notice d'accompagnement de l'*instrument NextSeq 550Dx* et les guides de référence applicables.

Caractéristiques de performance

Voir la notice d'accompagnement de l'*instrument NextSeq 550Dx*.

Brevets et marques de commerce

Ce document et son contenu sont exclusifs à Illumina, Inc. et à ses sociétés affiliées (« Illumina »); ils sont exclusivement destinés à l'usage contractuel de son client dans le cadre de l'utilisation du ou des produits décrits dans les présentes et ne peuvent servir à aucune autre fin. Ce document et son contenu ne seront utilisés ou distribués à aucune autre fin et ne seront communiqués, divulgués ou reproduits d'aucune façon sans le consentement écrit préalable d'Illumina. Illumina ne cède aucune licence en vertu de son brevet, de sa marque de commerce, de ses droits d'auteur ou de ses droits traditionnels ni des droits similaires d'un tiers quelconque par ce document.

Les instructions contenues dans ce document doivent être suivies strictement et explicitement par un personnel qualifié et adéquatement formé de façon à assurer l'utilisation correcte et sûre du ou des produits décrits dans les présentes. Le contenu intégral de ce document doit être lu et compris avant l'utilisation de ce ou ces produits.

SI UN UTILISATEUR NE LIT PAS COMPLÈTEMENT ET NE SUIT PAS EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LES PRÉSENTES, IL RISQUE DE CAUSER DES DOMMAGES AU(X) PRODUIT(S), DES BLESSURES, NOTAMMENT AUX UTILISATEURS ET À D'AUTRES PERSONNES, AINSI QUE D'AUTRES DOMMAGES MATÉRIELS, ANNULANT AUSSI TOUTE GARANTIE S'APPLIQUANT AU(X) PRODUIT(S).

ILLUMINA DÉCLINE TOUTE RESPONSABILITÉ DÉCOULANT DE L'UTILISATION INAPPROPRIÉE DU OU DES PRODUITS DÉCRITS DANS LES PRÉSENTES (Y COMPRIS LEURS COMPOSANTES ET LE LOGICIEL).

© 2020 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.

Coordonnées



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, CA 92122 États-Unis
+(1) 800 809-ILMN (4566)
+(1) 858 202-4566 (en dehors de l'Amérique du Nord)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE Eindhoven
Pays-Bas

Commanditaire australien

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

Étiquette du produit

Pour voir la liste complète des symboles qui peuvent apparaître sur l'emballage et l'étiquetage du produit, reportez-vous à la légende des symboles, sur le site support.illumina.com, à l'onglet *Documentation & Literature* (Documentation) propre à votre trousse.