

NextSeq™ 550Dx Instrument

Piattaforma di
sequenziamento a media
processività regolamentata
dall'FDA e con marchio CE

- Soddisfacimento delle esigenze cliniche e di ricerca con lunghezze di lettura flessibili e diverse configurazioni di output
- Accelerazione degli studi di ricerca con rapidi tempi di risposta e analisi dei dati di facile utilizzo
- Abilitazione dell'analisi secondaria conforme all'IVDR con possibilità di abbinare il server DRAGEN™ in laboratorio e la relativa licenza (disponibili in Paesi selezionati)
- Accesso a una crescente pipeline di test sviluppati in laboratorio con il supporto del bagaglio scientifico e dell'esperienza di Illumina

illumina®

Introduzione

NextSeq 550Dx Instrument è la prima piattaforma a media processività regolamentata dall'FDA e con marchio CE che offre ai laboratori clinici l'efficienza del sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) (figura 1). NextSeq 550Dx Instrument include la funzionalità dual boot, che comprende a sua volta una modalità diagnostica (IVD Mode)* e una modalità di ricerca (Research). Queste due modalità offrono la flessibilità necessaria per eseguire test diagnostici *in vitro* (IVD, *In Vitro* Diagnostics), creare test sviluppati in laboratorio (LDT, Lab-Developed Test) e svolgere ricerche cliniche su un singolo strumento.† NextSeq 550Dx Instrument è una piattaforma a media processività convalidata che offre l'accesso a una pipeline di applicazioni cliniche in continua espansione in molti campi, come quelli dell'oncologia e della salute riproduttiva.

NextSeq 550Dx Instrument è in grado di generare fino a 120 Gb di dati in meno di due giorni, assicurando al contempo la coerenza richiesta a una piattaforma regolamentata, e include uno strumento e un software di analisi completamente integrati. Quando eseguito in modalità di ricerca, lo strumento supporta inoltre tutte le applicazioni di ricerca attualmente disponibili, inclusi sequenziamento dell'esoma, profilazione del trascrittoma, pannelli mirati progettati dal cliente e scansione di microarray. Vi è la possibilità di abbinare Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instrument‡ opzionale e relativa licenza per un'accurata ed efficiente analisi dei dati secondari conforme all'IVDR. Con NextSeq 550Dx Instrument, i laboratori clinici possono eseguire le corse in modalità IVD per l'analisi IVD o in modalità di ricerca su un'unica piattaforma, accelerando così gli studi clinici senza sacrificare la velocità e l'efficacia propri dei sequenziatori a media processività.

* Le corse eseguite in modalità IVD sono conformi agli standard normativi globali, comprese le normative FDA e IVDR.

† Per maggiori informazioni sulle partnership per lo sviluppo di test IVD, rivolgersi a un rappresentante Illumina.

‡ DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments è disponibile in Paesi selezionati.



Figura 1: NextSeq 550Dx Instrument. Sfruttando la chimica SBS e flussi di lavoro regolamentati e di facile utilizzo, NextSeq 550Dx Instrument fornisce risultati di elevata qualità per le applicazioni cliniche e di ricerca.

Accuratezza eccellente grazie alla chimica SBS Illumina

NextSeq 550Dx Instrument offre un'eccellente accuratezza per i test clinici e le applicazioni di ricerca. Lo strumento si basa sulla comprovata chimica di sequenziamento mediante sintesi (SBS, Sequencing By Synthesis) di Illumina. Questo metodo reversibile basato su terminatori rileva le singole basi man mano che vengono incorporate in filamenti di DNA in estensione e consente il sequenziamento in parallelo di milioni di frammenti di DNA. La chimica SBS di Illumina utilizza la competizione naturale tra tutti e quattro i nucleotidi marcati, il che riduce le distorsioni dovute all'incorporazione e consente un sequenziamento più efficace di regioni ripetitive e omopolimeri.¹

Rispetto al sequenziamento Sanger basato sull'elettroforesi capillare (CE, Capillary Electrophoresis), l'NGS è in grado di rilevare una più ampia gamma di varianti del DNA, incluse le varianti di bassa frequenza e le varianti adiacenti sottoposte a determinazione delle fasi, il che permette di ottenere risultati più rapidi e implica un numero inferiore di interventi manuali.^{2,3} Inoltre, i reagenti per il sequenziamento NextSeq offrono migliore intensità del segnale e un numero inferiore di falsi positivi e falsi negativi.⁴

Semplice flusso di lavoro in tre fasi

I saggi eseguiti su NextSeq 550Dx Instrument seguono un semplice processo in tre fasi che include preparazione delle librerie, sequenziamento e analisi dei dati (figura 2).

Preparazione delle librerie

La preparazione delle librerie inizia con l'aggiunta di primer ai campioni di DNA genomico (gDNA, genomic DNA) generando librerie indicizzate per la cattura e l'amplificazione simultanea di centinaia di regioni mirate. Il kit di preparazione delle librerie Illumina DNA Prep with Enrichment Dx supporta pannelli oligonucleotidici definiti dall'utente per una serie di applicazioni cliniche. Il kit di preparazione delle librerie è veloce ed efficiente e richiede appena 50 ng di gDNA o DNA derivante da tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE, Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded) per produrre librerie di sequenziamento di elevata qualità in meno di un giorno.

Sequenziamento su NextSeq 550Dx Instrument

Grazie alle cartucce di reagenti preriempite, l'avvio di una corsa su NextSeq 550Dx Instrument è molto semplice: lo scongelamento, il caricamento e l'avvio richiedono interventi manuali per una durata di 30 minuti circa. L'interfaccia utente intuitiva consente ai ricercatori di eseguire diverse applicazioni di sequenziamento con requisiti minimi a livello di formazione dell'utente o tempo di impostazione dello strumento. Inoltre, con NextSeq 550Dx Instrument, la generazione di cluster e il sequenziamento SBS avvengono su un unico strumento e la transizione dall'analisi dei dati sullo strumento a quella sul cloud risulta semplificata. Come per NextSeq 550 System, NextSeq 550Dx Instrument fornisce dati di elevata qualità, con oltre il 75% di basi sequenziate con un punteggio qualitativo pari o superiore a Q30 (tabella 1).



Figura 2: processo in tre fasi del saggio NextSeq 550Dx. NextSeq 550Dx Instrument si inserisce in un flusso di lavoro integrato costituito da tre fasi. Con il saggio Illumina DNA Prep with Enrichment Dx sono disponibili report dettagliati sui risultati.

a. Illumina Run Manager è incluso nell'acquisto di DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments.

Tabella 1: parametri delle prestazioni di NextSeq 550Dx Instrument. Modalità IVD^{a,b}

Configurazione della cella a flusso	Lunghezza lettura	Output	Durata della corsa	Qualità dei dati ^c
Cella a flusso con output elevato	2 × 150 bp	120 Gb	< 35 ore	> 75% ≥ Q30

a. Librerie generate con il kit di preparazione delle librerie Illumina DNA Prep with Enrichment Dx.

b. Per i parametri delle prestazioni in modalità di ricerca, consultare le specifiche di NextSeq 550 System.

c. Un punteggio qualitativo di Q30 corrisponde a una percentuale di errore dello 0,1% nell'identificazione delle basi.

La configurazione di NextSeq 550Dx Instrument è semplice, così i ricercatori possono contare sulla scalabilità necessaria per gestire progetti con diversi livelli di processività. In modalità di ricerca, gli utenti possono scegliere tra due configurazioni della cella a flusso (Mid-Output e High-Output), passando facilmente dalla bassa processività all'elevata processività e viceversa in base alle necessità. Con un portafoglio di soluzioni IVD in espansione, i ricercatori possono facilmente passare da MiSeq™Dx Instrument a NextSeq 550Dx Instrument.

Software di sistema integrato

Sono disponibili due opzioni software per NextSeq 550Dx Instrument: Illumina Run Manager (disponibile con Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments) o Local Run Manager.

Illumina Run Manager consente di identificare le varianti in modo rapido e altamente accurato per i flussi di lavoro diagnostici utilizzando la preparazione flessibile delle librerie mirate di Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Al termine di una corsa di sequenziamento, Illumina Run Manager avvia automaticamente l'analisi dei dati utilizzando uno dei moduli di analisi specifico per l'applicazione selezionato durante la configurazione della corsa. Illumina Run Manager utilizza diverse funzioni digitali per garantire la sicurezza e la privacy

dei dati. L'accesso tramite strumento o da remoto consente agli utenti di pianificare e scaglionare più corse di sequenziamento, monitorare le librerie con audit trail e monitorare l'avanzamento della corsa.

L'interfaccia grafica utente avanzata di Illumina Run Manager su Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments consente di configurare la corsa di sequenziamento e di eseguire l'analisi secondaria dei dati senza difficoltà. Inoltre, la perfetta integrazione con NextSeq 550Dx Instrument riduce il numero di punti di interazione dell'utente e il tempo complessivo per ottenere i risultati (figura 3, tabella 2). Questa soluzione produce dati di sequenziamento di alta qualità e consente il rilevamento accurato di varianti somatiche e della linea germinale nei test diagnostici (tabella 3).

Il software Local Run Manager supporta la pianificazione delle corse di sequenziamento, il monitoraggio delle librerie e delle corse mediante audit trail nonché l'integrazione grazie a moduli integrati di analisi dei dati. Mentre Local Run Manager viene eseguito sul computer dello strumento, l'utente può monitorare l'avanzamento della corsa e visualizzare i risultati dell'analisi da altri computer collegati alla medesima rete. Al termine di una corsa di sequenziamento, Local Run Manager avvia automaticamente l'analisi dei dati su FASTQ utilizzando uno dei moduli di analisi specifico per l'applicazione.

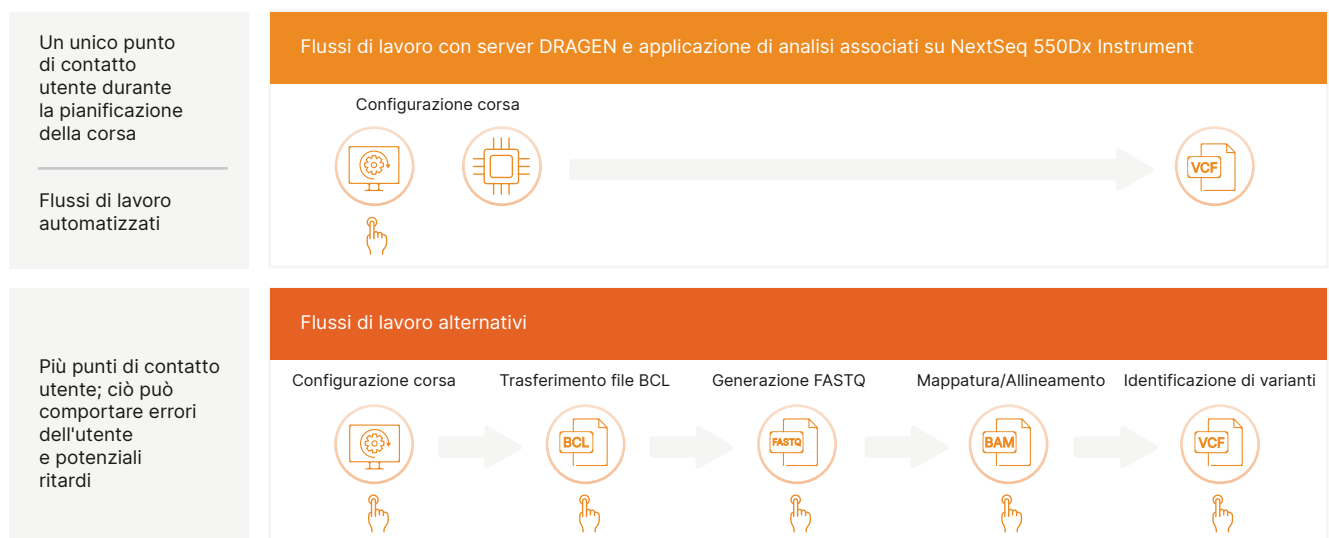


Figura 3: il flusso di lavoro con un unico punto di contatto riduce al minimo i ritardi e gli errori umani. I flussi di lavoro associati a DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments e le applicazioni di analisi sono automatizzati, così da richiedere un solo punto di contatto con l'utente durante la pianificazione della corsa, a differenza di altri flussi di lavoro che richiedono più punti di contatto.

Tabella 2: durata dell'analisi con l'app DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx su Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments

	Durata dell'analisi ^a
App DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx, compressione con ORA	5,82 min
App DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx	4,98 min

a. Durata media della corsa per l'analisi della linea germinale di otto campioni. I dati di sequenziamento sono stati generati utilizzando un pannello dell'esoma di 42,5 Mb con una profondità di lettura di 200x.

Tabella 3: confronto dell'accuratezza dell'identificazione di varianti della linea germinale in modalità IVD ^a


Pipeline	Precisione SNV	Richiamo SNV	F1 SNV	Precisione indel	Richiamo indel	F1 indel
BWA-GATK ^b	97,36%	93,95%	95,62%	65,29%	79,83%	71,78%
App DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx	99,14%	95,85%	97,46%	90,12%	85,43%	87,70%


a. Confronto dell'accuratezza dell'identificazione di varianti basato sul DNA genomico estratto dai campioni di riferimento del Coriell Institute. L'accuratezza dell'identificazione di varianti è stata valutata con l'Illumina Variant Calling Assessment Tool (VCAT 4.1.0) confrontando ciascun campione con una serie veritiera. SNV, variante a singolo nucleotide; indel, variante di inserzione-delezione.

b. Per il confronto, i dati di sequenziamento sono stati allineati con BWA-MEM (0.7.17), elaborati con SAMtools (1.15.1) e Picard (2.27.5) e analizzati con GATK 4.3.0.

Applicazioni IVD disponibili su Illumina Run Manager

In modalità IVD, NextSeq 550Dx Instrument supporta le applicazioni eseguite con il saggio Illumina DNA Prep with Enrichment Dx. Con la preparazione delle librerie a partire da gDNA derivato da tessuto FFPE, l'app DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx può eseguire l'identificazione di varianti somatiche con un limite di rilevamento (LoD, Limit of Detection) di 0,05. Lo strumento supporta fino a 192 campioni in multiplex su NextSeq 550Dx Instrument.

 [Accurata identificazione di varianti conformi a IVDR utilizzando Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments, nota sull'applicazione](#)

 [DRAGEN for Illumina DNA Prep with Enrichment Dx su NextSeq 550Dx, guida utente dell'applicazione](#)

Scansione di array in modalità di ricerca

In modalità di ricerca, NextSeq 550Dx Instrument offre flessibilità sperimentale supportando sia il sequenziamento che la scansione di microarray dei BeadChip Illumina.[§] Grazie alla scansione di microarray, i ricercatori hanno accesso immediato a una tecnologia altamente complementare per misurare le varianti del numero di copie e la metilazione del DNA (tabella 4). I flussi di lavoro integrati dal DNA ai dati consentono il rapido sequenziamento di esomi, pannelli di sequenziamento mirato e trascrittomi con configurazioni delle corse ad alta o media processività. Per maggiori informazioni sull'ampia gamma di applicazioni di sequenziamento e microarray supportata da NextSeq 550Dx Instrument in modalità di ricerca, consultare la scheda tecnica di NextSeq 550 System.⁵

§ NextSeq 550Dx Instrument in modalità di ricerca supporta la scansione di microarray di Infinium™ MethylationEPIC BeadChip e Infinium HumanCytoSNP-850K BeadChip.

Tabella 4: parametri per la scansione di array su NextSeq 550Dx Instrument in modalità di ricerca

BeadChip	Durata scansione per BeadChip	Durata scansione per campione
Infinium MethylationEPIC BeadChip	40 min	5 min
Infinium HumanCytoSNP-850K BeadChip	40 min	5 min

Riepilogo

NextSeq 550Dx Instrument porta le funzionalità dell'NGS a media processività nei laboratori clinici per applicazioni diagnostiche e di ricerca. Questa piattaforma trasformativa è caratterizzata da un semplice flusso di lavoro in tre fasi che sfrutta il comprovato sequenziamento di Illumina e l'abbinamento facoltativo di un server DRAGEN. NextSeq 550Dx Instrument offre l'accesso a flussi di lavoro regolamentati e rapidi per le applicazioni di identificazione di varianti somatiche e linee germinali e a un numero crescente di saggi clinici basati sull'NGS. NextSeq 550Dx Instrument offre ai clienti la flessibilità necessaria per produrre dati IVD quando il fattore tempo è cruciale e per rispondere ai più recenti interrogativi nel campo della ricerca clinica.

Maggiori informazioni

[NextSeq 550Dx Instrument](#)

[Applicazioni di NextSeq 550Dx](#)

[Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments](#)

[Illumina DNA Prep with Enrichment Dx](#)

Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
NextSeq 550Dx Instrument	20005715
NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles) ^a	20028870
NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles) ^a	20028871
Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments ^b	20086130
Illumina DNA Prep with Enrichment Dx with UD Indexes Set A (16 samples)	20051354
Illumina DNA Prep with Enrichment Dx with UD Indexes Set A (96 samples)	20051352
Illumina DNA Prep with Enrichment Dx with UD Indexes Set B (16 samples)	20051355
Illumina DNA Prep with Enrichment Dx with UD Indexes Set B (96 samples)	20051353
NextSeq Air Filter	20063988

a. I materiali di consumo per il sequenziamento di classe I prevedono la spedizione di un lotto singolo, il test su lotti di kit, la notifica anticipata delle modifiche e la disponibilità di un certificato di analisi per ciascun lotto. I reagenti sono sviluppati in base ai principi di controllo della progettazione, realizzati in base alle attuali buone pratiche di fabbricazione (cGMP, current good manufacturing practices) e verificati per assicurare la conformità alle specifiche.

b. DRAGEN Server for NextSeq 550Dx Instruments è disponibile in Paesi selezionati.

Bibliografia

1. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59. doi:10.1038/nature07517
2. Shokralla S, Porter TM, Gibson JF, et al. [Massively parallel multiplex DNA sequencing for specimen identification using an Illumina MiSeq platform](#). *Sci Rep*. 2015;5:9687. doi:10.1038/srep09687
3. Precone V, Monaco VD, Esposito MV. [Cracking the Code of Human Diseases Using Next-Generation Sequencing: Applications, Challenges, and Perspectives](#). *Biomed Res Int*. 2015;161648. doi:10.1155/2015/161648
4. Eberle MA, Fritzilas E, Krusche P, et al. [A reference data set of 5.4 million phased human variants validated by genetic inheritance from sequencing a three-generation 17-member pedigree](#). *Genome Res*. 2017;27:157-164. doi:10.1101/gr.210500.116
5. Illumina. Scheda tecnica di NextSeq 550 System. [illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/nextseq-550-system-spec-sheet-m-gl-01298/nextseq-550-system-spec-sheet-m-gl-01298.pdf](https://www.illumina.com/content/dam/illumina/gcs/assembled-assets/marketing-literature/nextseq-550-system-spec-sheet-m-gl-01298/nextseq-550-system-spec-sheet-m-gl-01298.pdf). Pubblicata nel 2017. Aggiornata nel 2022. Consultata il 20 maggio 2024.

Specifiche di NextSeq 550Dx Instrument

Parametro	Specifica
Configurazione dello strumento	Monitoraggio RFID dei materiali di consumo
Computer di controllo dello strumento	Processore Dual Intel Xeon E5-2648L v3 CPU da 1,8 GHz, Memoria: 128 GB Disco rigido, modalità IVD: 2 × 2 TB (RAID 1) Disco rigido, modalità di ricerca: 2 × 2 TB (RAID 1) Sistema operativo: Windows 10
Ambiente operativo	Temperatura: da 19 °C a 25 °C (22 °C ± 3 °C) Umidità: 20%-80% di umidità relativa senza condensa Altitudine: 0-2.000 m Ventilazione: fino a 2.048 BTU/ora @ 600 W Per uso esclusivo in interni
Diode a emissione luminosa (LED)	Verde 510-525 nm, rosso 645-655 nm; diodo laser: 780 nm, classe IIIb
Dimensioni	L × P × A: 54 cm × 69 cm × 58 cm Peso: 84,4 kg, peso imballato: 163,3 kg
Requisiti di alimentazione	100-120 V c.a. 15 A, 220-240 V c.a. 10 A
Identificazione a radio frequenza (RFID, Radio Frequency Identifier)	Frequenza: 13,56 MHz Potenza: corrente fornita 120 mA, potenza di output RF 200 mW
Sicurezza e conformità del prodotto	Certificato da un laboratorio NRTL (Nationally Recognized Testing Laboratory) Marchio CE IEC 61010-1 Approvazione FCC/IC

Dichiarazioni d'uso previsto

Usato previsto di NextSeq 550Dx Instrument (CE-IVD)

NextSeq 550Dx Instrument, quando usato insieme a saggi per diagnostica *in vitro*, è destinato al sequenziamento di librerie di DNA. NextSeq 550Dx Instrument deve essere utilizzato con determinati software analitici e reagenti per diagnostica *in vitro* registrati, certificati o approvati.

Usato previsto di NextSeq 550Dx Instrument (Stati Uniti e Canada)

NextSeq 550Dx Instrument quando usato con i saggi per diagnostica *in vitro* (IVD), è destinato al sequenziamento mirato di librerie di DNA ottenute da DNA genomico umano estratto da sangue intero periferico o da tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE). NextSeq 550Dx Instrument non è destinato al sequenziamento dell'intero genoma né al sequenziamento de novo. NextSeq 550Dx Instrument deve essere utilizzato con determinati software analitici e reagenti per diagnostica *in vitro* registrati, certificati o approvati.

Usato previsto di Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 Cycles)

Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 Cycles), quando usato con saggi convalidati, è un set di reagenti e materiali di consumo destinato al sequenziamento di librerie di campioni. Il kit deve essere utilizzato con NextSeq 550Dx Instrument e software analitici.

Usato previsto di Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles)

Illumina NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 Cycles), quando usato con saggi convalidati, è un set di reagenti e materiali di consumo destinato al sequenziamento di librerie di campioni. Il kit deve essere utilizzato con NextSeq 550Dx Instrument e software analitici.

Usato previsto di DNA Prep with Enrichment Dx Illumina (CE-IVD)

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx Kit è un set di reagenti e materiali di consumo utilizzato per preparare le librerie di campioni ottenute da DNA genomico proveniente da cellule e tessuti umani allo scopo di sviluppare saggi diagnostici *in vitro*. Per la preparazione di librerie mirate a determinate regioni di interesse genomico è necessario l'uso di pannelli sonda forniti dall'utente. Le librerie di campioni ottenute sono destinate all'uso sui sistemi di sequenziamento di Illumina. Illumina DNA Prep with Enrichment Dx include un software per la configurazione, il monitoraggio e l'analisi della corsa di sequenziamento.

Usato previsto di Illumina DNA Prep with Enrichment Dx (Stati Uniti)

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx Kit è un set di reagenti e materiali di consumo usato per preparare le librerie di campioni ottenute da DNA estratto da sangue intero periferico e tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE). Per la preparazione di librerie mirate a determinate regioni di interesse genomico è necessario l'uso di pannelli sonda forniti dall'utente. Le librerie di campioni ottenute sono destinate all'uso sui sistemi di sequenziamento di Illumina.



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina Web www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-00035 ITA v4.0