illumina

Modul za analizu DNA GenerateFASTQ Dx za Local Run Manager

Vodič za tijek rada za NextSeq 550Dx

ZA IN VITRO DIJAGNOSTIKU

Pregled	3
Unos podataka o obradi	3
Metode analize	5
Prikaz obrade i rezultata	5
Izvješće o rezultatima	6
Izlazne datoteke analize	6
Povijest revizija	10
Tehnička pomoć	11



Broj dokumenta 200015671 v01 HRV svibanj 2022. **ZA IN VITRO DIJAGNOSTIKU** VLASNIŠTVO TVRTKE ILLUMINA

Ovaj dokument i njegov sadržaj vlasništvo su tvrtke Illumina, Inc. i njezinih povezanih društava ("Illumina") te su namijenjeni isključivo za ugovornu upotrebu klijentima u vezi s proizvodima opisanima u njemu. Dokument i njegov sadržaj ne smiju se upotrebljavati ni distribuirati ni u koju drugu svrhu niti se smiju na neki drugi način prenositi, otkrivati ili reproducirati bez prethodnog pisanog odobrenja tvrtke Illumina. Illumina ovim dokumentom ne prenosi nikakve licence zaštićene svojim pravom na patent, žig, autorskim pravom ili običajnim pravom ni slična prava bilo koje treće strane.

Kvalificirano i odgovarajuće obučeno osoblje mora se strogo i bez iznimki pridržavati uputa u ovom dokumentu da bi se zajamčila pravilna i sigurna upotreba proizvoda opisanih u njemu. Prije upotrebe proizvoda nužno je s razumijevanjem pročitati cjelokupan sadržaj dokumenta.

AKO UPUTE U DOKUMENTU NE PROČITATE U CIJELOSTI TE IH SE NE PRIDRŽAVATE BEZ IZNIMKI, MOŽE DOĆI DO OŠTEĆENJA PROIZVODA, OZLJEDA KORISNIKA ILI DRUGIH OSOBA I DO OŠTEĆENJA DRUGE IMOVINE TE SE TIME PONIŠTAVAJU SVA JAMSTVA ZA PROIZVODE.

ILLUMINA NE PREUZIMA ODGOVORNOST ZA ŠTETE NASTALE USLIJED NEPRAVILNE UPOTREBE PROIZVODA KOJI SU OPISANI U OVOM DOKUMENTU (UKLJUČUJUĆI DIJELOVE TIH PROIZVODA I SOFTVER).

© 2022. Illumina, Inc. Sva prava pridržana.

Svi su žigovi vlasništvo tvrtke Illumina, Inc. ili svojih vlasnika. Konkretne informacije o žigovima potražite na adresi www.illumina.com/company/legal.html.

Pregled

Modul DNA GenerateFASTQ Dx softvera Local Run Manager prvo demultipleksira indeksirana očitanja. Ako ih ima, DNA GenerateFASTQ Dx generira izlazne datoteke međukoraka u obliku FASTQ datoteke, a zatim izlazi iz tog tijeka rada. Ne izvode se ujednačivanje ni daljnja analiza. FASTQ datoteke obavezan su ulaz pri analizi alatima za analizu trećih strana.

Modul Local Run Manager DNA GenerateFASTQ Dx može se izvršavati na softveru Local Run Manager v3.1.0 (ili novijem) i kompatibilan je sa sustavom NextSeq 550Dx Operating Software (NOS) v1.4 (ili novijim). Modul za analizu podržava sekvenciranje za analizu s pomoću analize Illumina DNA Prep With Enrichment Dx.

O ovom vodiču

U ovom vodiču navedene su upute za postavljanje parametara obrade za sekvenciranje i analizu za modul za analizu DNA GenerateFASTQ Dx. Upotreba tog softvera zahtijeva osnovno poznavanje aktualnog operacijskog sustava Windows i korisničkog sučelja utemeljenog na web-pregledniku. Da biste saznali više o nadzornoj ploči softvera Local Run Manager i postavkama sustava, pogledajte *Referentni priručnik za instrument NextSeq 550Dx (broj dokumenta 100000009513)*.

Unos podataka o obradi

Postavljanje parametara

- 1 Prijavite se u Local Run Manager.
- 2 Odaberite Create Run (Stvori obradu), a zatim DNA GenerateFASTQ Dx.
- 3 Unesite jedinstveni naziv obrade prema kojem će se obrada razlikovati od sekvenciranja putem analize (40 znakova ili manje).

Naziv obrade može sadržavati alfanumeričke znakove, razmake i posebne znakove `.~!@#\$%-_{}. Ne možete koristiti naziv iz neke prijašnje obrade.

- [neobavezno] Unesite opis obrade da biste lakše raspoznali obradu (150 znakova ili manje).
 Opis obrade može sadržavati alfanumeričke znakove, razmake i sljedeće posebne znakove:
 `.~!@#\$%-_{}.
- 5 Konfigurirajte sljedeće postavke obrade:
 - Pločica s indeksima odaberite raspored na pločici s indeksima koji će se koristiti tijekom pripreme biblioteke. Možete birati između skupova Index Set A (Skup indeksa A), Index Set B (Skup indeksa B) i Index Set AB (Skup indeksa AB). Da biste saznali više o rasporedima na pločici s indeksima, pogledajte *Informativni pregled za DNA Prep With Enrichment Dx*.
 Skupovi indeksa A i B sadrže 96 uzoraka i odgovarajuće jedinstvene dvostruke primere (UDP-ove). Skup indeksa AB sadrži 192 uzorka i odgovarajuće UDP-ove.
 - Vrsta očitanja odaberite jedno očitanje ili očitanje uparenih krajeva. Zadana vrsta očitanja jest ono uparenih krajeva.
 - Dužine očitanja unesite dužinu očitanja. Zadana dužina očitanja je 151.
- 6 U odjeljku Module-Specific Settings (Postavke specifične za modul) postavite mogućnost Adapter Trimming (Skraćivanje adaptera).

Skraćivanje adaptera prema zadanim je postavkama omogućeno.

7 Odaberite broj uzoraka za sekvenciranje. Odabran broj uzoraka obuhvaća automatski unesene preporučene UDP-ove. Ako ne želite koristiti preporučene UDP-ove, odaberite Custom (Prilagođeno). Ako broj uzoraka koje sekvencirate nije na padajućem popisu, odaberite najbliži broj uzoraka. Pripazite da je odabrani broj manji od broja koji se sekvencira i da, ako je potrebno, dodate dodatne UDP-ove. Primjerice, da biste testirali 18 uzoraka, odaberite mogućnost 16 uzoraka.

Navođenje uzoraka za obradu

Navedite uzorke za obradu koristeći jednu od sljedećih mogućnosti.

- **Ručni unos uzoraka** upotrijebite praznu tablicu na zaslonu Create Run (Stvaranje obrade).
- Uvoz uzoraka otvorite vanjsku datoteku u formatu vrijednosti odvojenih zarezom (*.csv). Moguće je preuzeti predložak na zaslonu Create Run (Stvaranje obrade).

Ručni unos uzoraka

1 Na karticu Sample ID (ID uzorka) unesite jedinstveni ID uzorka. Upotrijebite alfanumeričke znakove i/ili crtice (40 znakova ili manje).

ID uzorka te odgovarajući opis uzorka i položaj UDP-a označeni su plavom bojom, što znači da je uzorak umetnut.

- 2 **[neobavezno]** Da biste odabrali pozitivne i negativne kontrolne uzorke, kliknite desnom tipkom miša na jažice s uzorcima.
- 3 [neobavezno] Na karticu Sample Description (Opis uzorka) unesite opis uzorka. Opis uzorka može sadržavati alfanumeričke znakove, točke i posebne znakove `~!@#\$%-_{}. Razmaci nisu dopušteni. Ako se ID uzorka povezan s opisom uzorka ponovno upotrijebi u nekoj kasnijoj obradi, piše se preko prvotnog opisa uzorka.
- Ako je potrebno, izmijenite preporučene položaje UDP-ova. Predloženi položaji jažica za uzorke označeni su žutom, ljubičastom, narančastom i ružičastom bojom.
 Ako se koriste predložene jažice za uzorke, softver automatski unosi adaptere indeksa UDP-ova tako da se zadovolje zahtjevi za raznolikost indeksa. Ako broj uzoraka koji ste odabrali nije točan broj uzoraka koji testirate, svakako odaberite adaptere indeksa UDP-ova za višak jažica.
- 5 **[neobavezno]** Odaberite **Export Samples** (Izvoz uzoraka) da biste izvezli datoteku s podacima o uzorcima.
- 6 Odaberite Save Run (Spremi obradu).

Uvoz lista s uzorcima

Podatke o uzorku možete uvesti iz datoteke s podacima o uzorku koja je prethodno izvezena iz modula DNA GenerateFASTQ Dx s pomoću značajke Export Samples (Izvoz uzoraka) ili datoteke predloška koja se može generirati odabirom stavke **Template** (Predložak) na zaslonu Create Run (Stvaranje obrade). Upute kako stvoriti i izvesti podatke o uzorku potražite u odjeljku *Ručni unos uzoraka* na stranici 4.

Datoteka predloška ne obuhvaća automatski unesene preporučene UDP-ove.

Da biste uredili datoteku predloška:

- 1 Na zaslonu Create Run (Stvaranje obrade) odaberite **Template** (Predložak) da biste napravili novi raspored na pločici. Datoteka predloška sadrži točna zaglavlja stupaca za uvoz. Uredite datoteku na sljedeći način.
 - a U nekom uređivaču teksta otvorite list s uzorcima.

- b Unesite tražene podatke o uzorku.
- c Spremite datoteku u obliku vrijednosti odvojenih zarezom (*.csv). Pripazite da su ID-ovi uzoraka jedinstveni.

Da biste uvezli podatke o uzorku:

- 2 Odaberite Import Samples (Uvezi uzorke) pa odaberite CSV datoteku.
- 3 [neobavezno] Odaberite Export (Izvezi) da biste izvezli podatke o uzorku u vanjsku datoteku.
- 4 Odaberite **Save Run** (Spremi obradu).

Uređivanje obrade

Da biste saznali više o uređivanju podataka o obradi prije sekvenciranja, pogledajte Referentni vodič za instrument NextSeq 550Dx (broj dokumenta 100000009513).

Metode analize

Modul za analizu DNA GenerateFASTQ Dx izvodi sljedeće korake analize, a zatim zapisuje izlazne datoteke analize u mapu Alignment (Usklađivanje).

- Čitanja indeksa demultipleksiranja
- Generiranje FASTQ datoteka

Demultipleksiranje

Demultipleksiranje uspoređuje svaku sekvencu čitanja indeksa s navedenim sekvencama indeksa za obradu. U tom se koraku ne gledaju vrijednosti kvalitete.

Čitanja indeksa prepoznaju se u sljedećim koracima:

- ▶ Uzorci se numeriraju počevši od 1 na temelju redoslijeda kojim su navedeni za obradu.
- Broj uzorka 0 rezerviran je za klastere koji nisu dodijeljeni uzorku.
- Klasteri se dodjeljuju uzorku kad se sekvenca indeksa točno podudara ili kad se nađe maksimalno jedno nepodudaranje po čitanju indeksa.

Generiranje FASTQ datoteke

Nakon demultipleksiranja softver generira sporedne datoteke analize u formatu FASTQ, a to je tekstni format korišten za predstavljanje sekvenci. FASTQ datoteke sadrže očitanja za svaki uzorak i povezano bodovanje kvalitete. Izuzete su sve kontrole korištene za obradu i klasteri koji nisu prošli filtre.

Svaka FASTQ datoteka sadrži očitanja samo za jedan uzorak, a naziv tog uzorka uvršten je u naziv FASTQ datoteke. FASTQ datoteke primarne su ulazne datoteke za usklađivanje.

Prikaz obrade i rezultata

- 1 Na nadzornoj ploči softvera Local Run Manager odaberite naziv obrade.
- 2 Na kartici Run Overview (Pregled obrade) provjerite mjerne podatke o obradi sekvenciranjem.
- 3 Da biste promijenili lokaciju datoteke s podacima o analizi za buduće zahtjeve odabrane obrade, odaberite ikonu Edit (Uredi) pa uredite put do datoteke u izlaznoj mapi obrade. Ne možete urediti naziv izlazne mape obrade.

- 4 **[neobavezno]** Odaberite **Copy to Clipboard** (Kopiraj u međuspremnik) da biste kopirali put do datoteke u izlaznoj mapi obrade.
- 5 Odaberite karticu Sequencing Information (Podaci o sekvenciranju) da biste pregledali parametre obrade i podatke o potrošnom materijalu.
- 6 Odaberite karticu Samples & Results (Uzorci i rezultati) da biste prikazali izvješće o analizi.
 - Ako je analiza ponovno stavljena u red čekanja, odaberite odgovarajuću analizu na padajućem popisu Select Analysis (Odaberite analizu).
 - Na lijevoj navigacijskoj traci odaberite ID uzorka da biste prikazali izvješće za drugi uzorak.
- 7 **[neobavezno]** Odaberite **Copy to Clipboard** (Kopiraj u međuspremnik) da biste kopirali stazu do datoteke u mapi analize.

Izvješće o rezultatima

Rezultati su sažeti na kartici Samples and Results (Uzorci i rezultati).

Uzorci

Tablica 1 Tablica s uzorcima

Zaglavlje stupca	Opis
ID uzorka	ID uzorka naveden prilikom stvaranja obrade.
Pločica	Pločica dobivena s pločicom s indeksima pri stvaranju obrade. Stupac se prikazuje samo ako je odabrana pločica s indeksima AB.
Indeksna jažica	Indeksna jažica dobivena s lokacijama jažica s uzorcima pri stvaranju obrade.
Opis	Opis uzoraka napravljen pri stvaranju obrade.
UDP	UDP korišten s uzorkom.
Kontrola	Pozitivna ili negativna kontrola korištena s uzorkom.

Indeksiranje

Tablica 2 Tablica za indeksiranje

Zaglavlje stupca	Opis
Broj indeksa	Dodijeljeni ID utemeljen na redoslijedu navođenja uzoraka u tablici uzoraka.
ID uzorka	ID uzorka naveden prilikom stvaranja obrade.
UDP	UDP korišten s uzorkom.
% Reads Identified (PF) (identificirana očitanja)	Postotak očitanja koja su prošla filtre.

Izlazne datoteke analize

Sljedeće izlazne datoteke analize generira modul za analizu DNA GenerateFASTQ Dx.

Naziv datoteke	Opis
Demultipleksiranje (*.demux)	Datoteke međukoraka s rezultatima demultipleksiranja.
FASTQ (*.fastq.gz)	Sporedne datoteke koje sadrže prepoznavanja baza za koja postoji ocjena kvalitete. FASTQ datoteke primarne su ulazne datoteke u koraku usklađivanja.

Format datoteke demultipleksiranja

Postupak demultipleksiranja čita sekvencu indeksa priloženu svakom klasteru radi određivanja iz kojeg uzorka klaster potječe. Mapiranje između klastera i broja uzorka zapisuje se u datoteku demultipleksiranja (*.demux) za svaku pločicu protočne jedinice.

Format imenovanja datoteka demultipleksiranja je s_1_X.demux, pri čemu je X broj pločice.

Datoteke demultipleksiranja počinju zaglavljem:

- verzija (cjelobrojna vrijednost od 4 bajta), trenutačno je to 1
- broj klastera (cjelobrojna vrijednost od 4 bajta)

Ostatak datoteke sastoji se od brojeva uzoraka iz svakog klastera s pločice.

Kad se korak demultipleksiranja završi, softver generira datoteku demultipleksiranja naziva DemultiplexSummaryF1L1.txt.

- ▶ U tom nazivu datoteke F1 predstavlja broj protočne jedinice.
- U tom nazivu datoteke L1 predstavlja broj staze.
- Rezultati demultipleksiranja u tablici s jednim retkom po pločici i jednim stupcem po uzorku, uključujući uzorak 0.
- Sekvence u očitanjima indeksa koje se najčešće pojavljuju.

Format datoteke FASTQ

FASTQ je format datoteke utemeljen na tekstu koji sadrži prepoznavanja baza i vrijednosti kvalitete po očitanju. Svaki zapis sastoji se od 4 retka:

- identifikatora
- sekvence
- znaka plus (+)
- Phred bodovanja kvalitete u formatu kodiranom prema standardu ASCII + 33

Identifikator je ovako oblikovan:

@Instrument:IDObrade:IDProtočneJedinice:Staza:Pločica:X:Y BrojČitanja:ZastavicaFiltra:0:BrojUzorka

Primjer:

```
@SIM:1:FCX:1:15:6329:1045 1:N:0:2
TCGCACTCAACGCCCTGCATATGACAAGACAGAATC
+
<>;##=><9=AAAAAAAAAA9#:<#<;<<<????#=</pre>
```

Pomoćne izlazne datoteke

U sljedećim se izlaznim datotekama nalaze pomoćne informacije ili sažeci rezultata obrade i pogrešaka u analizi. Te datoteke nisu nužne za procjenu rezultata analize, ali mogu se upotrebljavati u svrhe otklanjanja poteškoća. Ako nije drugačije navedeno, sve se datoteke nalaze u mapi Alignment (Usklađivanje).

Naziv datoteke	Opis
AdapterTrimming.txt	Donosi broj skraćenih baza i postotak baza za svaku pločicu. Ta je datoteka prisutna samo ako je za obradu navedeno skraćivanje adaptera.
AnalysisLog.txt	Zapisnik o obradi koji opisuje svaki korak poduzet tijekom analize trenutačne mape za obradu. Ta datoteka ne sadrži poruke o pogreškama. Nalazi se na korijenskoj razini mape obrade.
AnalysisError.txt	Zapisnik o obradi u kojem se navode sve pogreške koje su se dogodile tijekom analize. Ta će datoteka biti prazna ako se nije pojavila nijedna pogreška. Nalazi se na korijenskoj razini mape obrade.
CompletedJobInfo.xml	Nastaje po dovršetku analize, a sadrži podatke o obradi poput datuma, ID-a protočnog članka, verzije softvera i drugih parametara. Nalazi se na korijenskoj razini mape obrade.
Checksum.csv	Sadrži nazive datoteka i jedinstvene vrijednosti kontrolnog zbroja za određene i neodređene FASTQ datoteke, BCL datoteke i datoteku SampleSheetUsed.csv.
DemultiplexSummaryF1L1.txt	lzvješćuje o rezultatima demultipleksiranja u tablici s 1 retkom po pločici i 1 stupcem po uzorku.
GenerateFASTQRunStatistics.xml	Sadrži sažetak statističkih podataka specifičnih za konkretnu obradu. Nalazi se na korijenskoj razini mape obrade.

Mapa Analysis (Analiza)

U mapi analize nalaze se datoteke koje generira softver Local Run Manager.

Odnos između izlazne mape i mape analize može se sažeti ovako:

- ▶ Tijekom sekvenciranja analiza u stvarnom vremenu (Real-Time Analysis, RTA) puni izlaznu mapu datotekama generiranim tijekom analize slike, prepoznavanja baza i bodovanja kvalitete.
- RTA u stvarnom vremenu kopira datoteke u mapu analize. Kad RTA svakoj bazi za svaki ciklus dodijeli ocjenu kvalitete, softver zapisuje datoteku RTAComplete.xml u obje mape.
- Kad je prisutna datoteka RTAComplete.xml, počinje analiza.
- Kako se analiza nastavlja, Local Run Manager zapisuje izlazne datoteke u mapu analize, a zatim te datoteke ponovno kopira u izlaznu mapu.

Mape Alignment (Usklađivanje)

Svaki put kad je ponovno na redu analiza, Local Run Manager stvara mapu za usklađivanje naziva Alignment_N (Usklađivanje_N), pri čemu je N neki broj u nizu.

Struktura mapa

🚞 Podaci

Alignment_## (Usklađivanje_##) ili Alignment_Imported_## (Usklađivanje_Uvezeno_##)

📄 [Vremenska oznaka obrade]

🚞 DataAccessFiles

🚞 Fastq

FastqSummaryF1L1.txt

Sample1_S1_L001_R1_001.fastq.gz

- Sample2_S2_L001_R2_001.fastq.gz
- Undetermined_S0_L001_R1_001.fastq.gz

ZA IN VITRO DIJAGNOSTIKU

Undetermined_S0_L001_R2_001.fastq.gz 🚞 Zapisivanje BuildFastq0.stdout.txt BuildFastq1.stdout.txt Commands.txt Crteži AdapterCounts.txt AdapterTrimming.txt E AnalysisError.txt AnalysisLog.txt Checkpoint.txt E Checksum.csv CompletedJobInfo.xml DemultiplexSummaryF1L1.txt GenerateFASTQRunStatistics.xml SampleSheetUsed.csv

Prepoznavanje baza i raznolikost indeksa

Kad se sekvenciraju uzorci na instrumentu NextSeq 550Dx, određivanjem baza definira se baza (A, C, G ili T) za svaki klaster određene pločice ili područje snimanja na protočnoj jedinici u određenom ciklusu. Instrument NextSeq 550Dx koristi dvokanalno sekvenciranje koje zahtijeva dvije slike za šifriranje podataka za baze DNK: jednu iz crvenog kanala i drugu iz zelenog kanala.

Postupak čitanja indeksa tijekom prepoznavanja baza razlikuje se od prepoznavanja baza tijekom drugih čitanja.

Čitanja indeksa moraju početi s bar jednom bazom koja nije G u nekom od prva dva ciklusa. Ako čitanje indeksa počinje s dva prepoznavanja baza G, ne generira se intenzitet signala. Signal mora biti prisutan u nekom od prva dva ciklusa da bi se osigurala radna svojstva demultipleksiranja.

Prilikom odabira indeksa tijekom stvaranja obrade pojavit će se upozorenje na nisku raznolikost ako indeksi ne zadovoljavaju preduvjete raznolikosti. Da biste spriječili pojavu upozorenja na nisku raznolikost, odaberite sekvence indeksa koje daju signal u oba kanala za svaki ciklus.

- Crveni kanal A ili C
- Zeleni kanal A ili T

Takav postupak prepoznavanja baza osigurava točnost prilikom analize uzoraka male višekratnosti. Da biste saznali više o sekvencama vaših indeksa, pogledajte *Informativni pregled za Illumina DNA Prep With Enrichment Dx*.

Tijekom stvaranja obrade u softveru Local Run Manager odabrat ćete broj uzoraka koji će se testirati. Softver automatski popunjava predložene kombinacije indeksa koje zadovoljavaju preduvjete raznolikosti indeksa. Iako niste obavezni koristiti predložene kombinacije UDP indeksa, to se preporučuje.

Povijest revizija

Dokument	Datum	Opis promjene
Broj dokumenta 200015671 v01	svibanj 2022.	Dodana adresa australskog sponzora. Objašnjeno ograničenje opisa uzorka.
Broj dokumenta 200015671 v00	veljača 2022.	Početno izdanje

Tehnička pomoć

Ako vam je potrebna tehnička pomoć, obratite se službi za tehničku podršku tvrtke Illumina.

Web-mjesto:www.illumina.comAdresa e-pošte:techsupport@illumina.com

Telefonski brojevi službe za podršku korisnicima tvrtke Illumina

Regija	Besplatni telefon	Regionalno
Sjeverna Amerika	+1.800.809.4566	
Australija	+1.800.775.688	
Austrija	+43 800006249	+43 19286540
Belgija	+32 80077160	+32 34002973
Danska	+45 80820183	+45 89871156
Finska	+358 800918363	+358 974790110
Francuska	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong, Kina	800960230	
Irska	+353 1800936608	+353 016950506
Italija	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800.111.5011	
Južna Koreja	+82 80 234 5300	
Kina	400.066.5835	
Nizozemska	+31 8000222493	+31 207132960
Njemačka	+49 8001014940	+49 8938035677
Norveška	+47 800 16836	+47 21939693
Novi Zeland	0800.451.650	
Singapur	+1.800.579.2745	
Španjolska	+34 911899417	+34 800300143
Švedska	+46 850619671	+46 200883979
Švicarska	+41 565800000	+41 800200442
Tajvan, Kina	00806651752	
Velika Britanija	+44 8000126019	+44 2073057197
Ostale države	+44.1799.534000	

Sigurnosno-tehnički listovi (SDS-ovi) – dostupni su na web-mjestu tvrtke Illumina na adresi support.illumina.com/sds.html.

Dokumentacija o proizvodima – dostupna je za preuzimanje na web-mjestu support.illumina.com.



Illumina 5200 Illumina Way San Diego, California 92122 SAD +1.800.809.ILMN (4566) +1.858.202.4566 (izvan Sjeverne Amerike) techsupport@illumina.com www.illumina.com

ZA IN VITRO DIJAGNOSTIKU

© 2022. Illumina, Inc. Sva prava pridržana.



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

Australski sponzor

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

