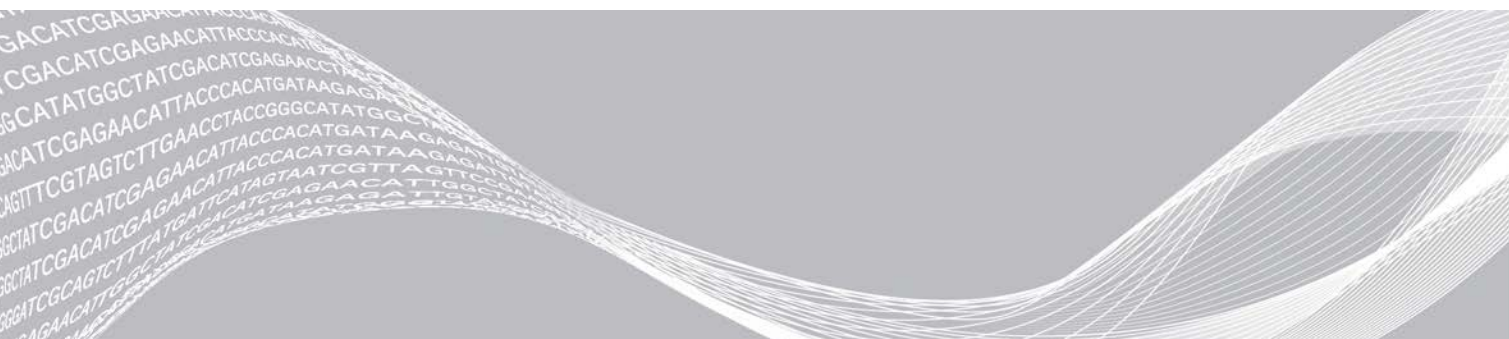


Modulo di analisi Local Run Manager CF 139-Variant 2.0

Guida al flusso di lavoro

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

Descrizione generale	3
Immissione delle informazioni per la corsa	3
Metodi di analisi	5
Visualizzazione della corsa e dei risultati	5
File dei dati di monitoraggio dei lotti	6
Report dei risultati	6
Assistenza Tecnica	9



Questo documento e il suo contenuto sono di proprietà di Illumina, Inc. e delle aziende ad essa affiliate ("Illumina") e sono destinati esclusivamente ad uso contrattuale da parte dei clienti di Illumina, per quanto concerne l'utilizzo dei prodotti qui descritti, con esclusione di qualsiasi altro scopo. Questo documento e il suo contenuto non possono essere usati o distribuiti per altri scopi e/o in altro modo diffusi, resi pubblici o riprodotti, senza previa approvazione scritta da parte di Illumina. Mediante questo documento Illumina non trasferisce alcuna licenza sui propri diritti su brevetti, marchi di fabbrica, copyright, o diritti secondo il diritto consuetudinario, né alcun diritto simile di alcun terzo.

Al fine di assicurare un uso sicuro e corretto dei prodotti qui descritti, le istruzioni riportate in questo documento devono essere scrupolosamente ed esplicitamente seguite da personale qualificato e adeguatamente formato. Leggere e comprendere a fondo tutto il contenuto di questo documento prima di usare tali prodotti.

LA LETTURA INCOMPLETA DEL CONTENUTO DEL PRESENTE DOCUMENTO E IL MANCATO RISPETTO DI TUTTE LE ISTRUZIONI IN CONTENUTE POSSONO CAUSARE DANNI AL/I PRODOTTO/I, LESIONI PERSONALI A UTENTI E TERZI E DANNI MATERIALI E RENDERANNO NULLA QUALSIASI GARANZIA APPLICABILE AL/I PRODOTTO/I.

ILLUMINA NON SI ASSUME ALCUNA RESPONSABILITÀ DERIVANTE DALL'USO IMPROPRIO DEL/DEI PRODOTTO/I QUI DESCRITTI (INCLUSI SOFTWARE O PARTI DI ESSO).

© 2020 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.

Descrizione generale

Il modulo di analisi Local Run Manager CF 139-Variant 2.0 è previsto per l'uso con il saggio TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant. Il saggio rileva 139 mutazioni rilevanti che causano la fibrosi cistica e le varianti del gene regolatore della conduttanza transmembrana (Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator, *CFTR*) nel DNA genomico isolato da campioni di sangue intero periferico umano. Il modulo di analisi esegue l'analisi secondaria e genera report con i dati ottenuti dalle corse di sequenziamento utilizzando il saggio TruSight Cystic Fibrosis. Per maggiori informazioni, vedere l'*Inserto della confezione per TruSight Cystic Fibrosis Kit* (documento n. 1000000097720).

Il modulo di analisi valuta le regioni brevi di DNA amplificato, o ampliconi, rilevandone le varianti. Il sequenziamento mirato degli ampliconi consente l'elevata copertura di determinate regioni su un ampio numero di campioni.

Informazioni sulla guida

La presente guida fornisce istruzioni per l'impostazione dei parametri di una corsa per il sequenziamento e l'analisi sul modulo di analisi CF 139-Variant 2.0. L'utilizzo del software richiede nozioni di base sull'attuale sistema operativo Windows e sull'interfaccia utente basata su browser Web. Per informazioni sul pannello di controllo e sulle impostazioni di sistema di Local Run Manager, vedere la *Guida di consultazione del software Local Run Manager per MiSeqDx* (documento n. 1000000011880).

Immissione delle informazioni per la corsa

Impostazione dei parametri

- 1 Accedere a Local Run Manager.
- 2 Selezionare **Create Run** (Crea corsa), quindi selezionare **CF 139-Variant 2.0**.
- 3 Immettere un nome che identifichi la corsa dal sequenziamento fino all'analisi.
Utilizzare caratteri alfanumerici, spazi, trattini bassi o trattini (40 caratteri o numero inferiore).
- 4 **[Facoltativo]** Immettere una descrizione della corsa.
Utilizzare caratteri alfanumerici, spazi, trattini bassi o trattini (150 caratteri o numero inferiore).
- 5 Immettere il numero di lotto e la data di scadenza del kit di preparazione delle librerie.

Impostazione dei campioni per la corsa

Impostare i campioni per la corsa mediante una delle seguenti opzioni.

- ▶ **Immissione manuale dei campioni:** utilizzare la tabella vuota presente sulla schermata Create Run (Crea corsa). Sono evidenziati i pozzetti di campione suggeriti.
- ▶ **Importazione dei campioni:** individuare un file esterno nel formato con valori separati da virgola (*.csv). Dalla schermata Create Run (Crea corsa) è possibile scaricare un modello.

Immissione manuale dei campioni

- 1 Immettere un nome campione univoco nel campo Sample Name (Nome campione).
Utilizzare caratteri alfanumerici, trattini bassi o trattini (40 caratteri o numero inferiore).
- 2 Fare clic con il pulsante destro del mouse e selezionare i campioni di controllo positivi e negativi.
Per salvare una corsa questa deve avere almeno un controllo positivo e un controllo negativo.

- 3 **[Facoltativo]** Immettere una descrizione del campione nella scheda Description (Descrizione) del campione.
Utilizzare caratteri alfanumerici, trattini bassi o trattini (50 caratteri o numero inferiore).
- 4 **[Facoltativo]** Selezionare un adattatore indice 1 dall'elenco a discesa Index 1 (i7) (Indice 1 - i7).
Questa fase è facoltativa perché, per impostazione predefinita, le combinazioni indici i7 e i5 vengono popolate automaticamente.
- 5 **[Facoltativo]** Selezionare un adattatore indice 2 dall'elenco a discesa Index 2 (i5) (Indice 2 - i5).
Questa fase è facoltativa perché, per impostazione predefinita, le combinazioni indici i7 e i5 vengono popolate automaticamente.
- 6 Selezionare l'icona **Print** (Stampa) per visualizzare il layout della piastra.
- 7 Selezionare **Print** (Stampa) per stampare il layout della piastra da utilizzare come riferimento per la preparazione delle librerie.
- 8 **[Facoltativo]** Selezionare **Export** (Esporta) per esportare il file contenente le informazioni sui campioni.
- 9 Selezionare **Save Run** (Salva corsa).
Se vengono inseriti meno di 24 campioni, viene visualizzata la finestra Insufficient Sample (Campione insufficiente). Selezionare **Proceed** (Prosegui) per continuare oppure selezionare **Cancel** (Annulla) per modificare i campioni.



ATTENZIONE

La prosecuzione con meno di 24 campioni non è convalidata da Illumina. Per maggiori informazioni, vedere l'Insero della confezione per TruSight Cystic Fibrosis (documento n. 1000000097720).

Importazione dei campioni

Le informazioni dei campioni possono essere importate da due tipi di file:

- ▶ Un file contenente le informazioni sui campioni che era stato precedentemente esportato dal modulo CF 139-Variant 2.0 mediante la funzione Export (Esporta).
- ▶ Un file con il modello, che può essere generato selezionando **Template** (Modello) nella schermata Create Run (Crea corsa). Il file con il modello contiene le intestazioni di colonna corrette per eseguire l'importazione, con informazioni sui segnaposti contenuti in ogni colonna. Utilizzare un editor esterno per personalizzare il file con il modello:
 - 1 Aggiungere le informazioni sui campioni per ogni campione nella corsa.
 - 2 Una volta aggiunte tutte le informazioni, eliminare qualsiasi informazione segnaposto nelle caselle non utilizzate.
 - 3 Salvare il file con il modello.

Per importare le informazioni sui campioni:

- 1 Selezionare **Import Samples** (Importa campioni), quindi individuare il file e selezionarlo.
- 2 Selezionare l'icona **Print** (Stampa) per visualizzare il layout della piastra.
- 3 Selezionare **Print** (Stampa) per stampare il layout della piastra da utilizzare come riferimento per la preparazione delle librerie.
- 4 **[Facoltativo]** Selezionare **Export** (Esporta) per esportare le informazioni sui campioni in un file esterno.
- 5 Selezionare **Save Run** (Salva corsa).

Se vengono inseriti meno di 24 campioni, viene visualizzata la finestra Insufficient Sample (Campione insufficiente). Selezionare **Proceed** (Prosegui) per continuare oppure selezionare **Cancel** (Annulla) per modificare i campioni.



ATTENZIONE

La prosecuzione con meno di 24 campioni non è convalidata da Illumina. Per maggiori informazioni, vedere l'Insero della confezione per TruSight Cystic Fibrosis (documento n. 1000000097720).

Modifica di una corsa

Per istruzioni su come modificare le informazioni della corsa prima del sequenziamento, vedere la *Guida di consultazione del software Local Run Manager per MiSeqDx* (documento n. 1000000011880).

Metodi di analisi

Per una descrizione dei metodi di analisi per TruSight Cystic Fibrosis, vedere l'Insero della confezione di *TruSight Cystic Fibrosis Kit* (documento n. 1000000097720).

Visualizzazione della corsa e dei risultati

- 1 Dalla schermata principale di Local Run Manager, fare clic sul nome della corsa.
- 2 Dalla scheda Run Overview (Panoramica corsa), rivedere le metriche della corsa di sequenziamento.
- 3 **[Facoltativo]** Selezionare l'icona **Copy to Clipboard** (Copia negli appunti) per copiare il percorso della cartella contenente gli output della corsa.
- 4 Selezionare la scheda Sequencing Information (Informazioni sequenziamento) per rivedere i parametri della corsa e le informazioni relative ai materiali di consumo.
- 5 Selezionare la scheda Samples and Results (Campioni e risultati) per visualizzare la posizione del file dei risultati dell'analisi.
La scheda fornisce un elenco dei campioni che riepiloga la percentuale di identificazione, le prestazioni e le informazioni sui campioni di controllo.
 - ▶ Se l'analisi è stata ripetuta, espandere l'elenco a discesa Select Analysis (Seleziona analisi) e selezionare l'analisi appropriata.
- 6 **[Facoltativo]** Fare doppio clic nel campo Comment (Commento) per immettere un commento su un campione contenuto nell'elenco. Fare clic su **Save Changes** (Salva modifiche).
- 7 Selezionare i campioni nell'elenco per visualizzare le informazioni dettagliate sulle varianti. Le informazioni sulle varianti dei campioni vengono visualizzate sotto l'elenco dei campioni.



NOTA

Ogni volta che vengono salvate le modifiche, viene generato un file dei risultati dell'analisi nella cartella **Alignment** (Allineamento). Questo file include il timestamp aggiunto al nome del file nel formato **AAMMGG_HHMMSS**.

Per maggiori informazioni sulle schede Run Overview (Panoramica corsa) e Sequencing Information (Informazioni sequenziamento) e su come rimettere in coda un'analisi, vedere la *Guida di consultazione del software Local Run Manager per MiSeqDx* (documento n. 1000000011880).

File dei dati di monitoraggio dei lotti

Al completamento dell'analisi, scegliere una delle opzioni seguenti per visualizzare il file `LotTracking.txt`.

- ▶ Dalla scheda **Samples and Results** (Campioni e risultati), fare clic su **Export Lot Tracking Data** (Esporta dati di monitoraggio del lotto).
- ▶ Aprire il file contenuto nella cartella **Alignment** (Allineamento).
Il percorso per la cartella **Alignment** (Allineamento) viene visualizzato nella scheda **Samples and Results** (Campioni e risultati) nel campo **Analysis Folder** (Cartella analisi).
 - ▶ **[Facoltativo]** Selezionare l'icona **Copy to Clipboard** (Copia negli appunti) per copiare il percorso della cartella **Analysis** (Analisi).

Una volta completata l'analisi, il file dei dati di monitoraggio del lotto viene scritto nella cartella **Alignment** (Allineamento) relativa alla corsa. Ad esempio: `MiSeqAnalysis\<Nome cartella corsa>\Alignment_NVAAMMGG_HHMMSS`. `N` è un numero sequenziale che aumenta quando l'analisi viene rimessa in coda. `AAMMGG_HHMMSS` è il timestamp della corsa.

Report dei risultati

Al termine dell'analisi secondaria, i risultati dell'analisi vengono riepilogati sulla scheda **Samples and Results** (Campioni e risultati). Per il saggio viene creato anche un file dei risultati dell'analisi (output) che riepiloga i risultati in un file di testo delimitato da tabulazioni chiamato `TruSightCF139VariantAssay.txt`.

Il file dei risultati dell'analisi include le informazioni della scheda **Samples and Results** (Campioni e risultati). Scegliere una delle seguenti opzioni per visualizzare il file dei risultati dell'analisi

`TruSightCF139VariantAssay.txt`:

- ▶ Dalla scheda **Samples and Results** (Campioni e risultati), fare clic su **Export Data** (Esporta dati).
- ▶ Aprire il file contenuto nella cartella **Alignment** (Allineamento).
Il percorso per la cartella **Alignment** (Allineamento) viene visualizzato nel campo **Analysis Folder** (Cartella analisi) della scheda **Samples and Results** (Campioni e risultati).



NOTA

Selezionare **Copy to Clipboard** (Copia negli appunti) per copiare il percorso della cartella **Analysis** (Analisi).

I file di analisi per ogni corsa di sequenziamento vengono archiviati sullo strumento e salvati in `MiSeqAnalysis\<Nome cartella corsa>\Data\Intensities\BaseCalls` e `MiSeqAnalysis\<Nome cartella corsa>\Alignment_NVAAMMGG_HHMMSS`. `N` è un numero sequenziale che aumenta quando l'analisi viene rimessa in coda. `AAMMGG_HHMMSS` è il timestamp della corsa.

Informazioni sul file dei risultati dell'analisi

Il file dei risultati dell'analisi `TruSightCF139VariantAssay.txt` include tre sezioni: l'intestazione del file, le informazioni sui campioni e le informazioni sulle varianti dei campioni. L'intestazione del file viene elencata per prima e include informazioni generali sulla corsa. Prestare attenzione che vi è una sola intestazione del file per corsa. Le informazioni sui campioni e le informazioni sulle varianti dei campioni sono invece incluse per ogni campione utilizzato nell'analisi. Queste sezioni vengono accoppiate per ogni campione.

La tabella seguente fornisce una descrizione di ogni riga nell'intestazione del file, che include informazioni sulla corsa:

Tabella 1 Intestazione file (informazioni corsa)

Intestazione riga	Descrizione
Test	Descrive il test eseguito.
Run ID (ID corsa)	L'ID della corsa generato da MiSeq Operating Software (MOS) all'avvio della corsa di sequenziamento.
Run Date (Data corsa)	Data (AAMMGG) in cui la corsa di sequenziamento ha avuto inizio in MOS.
Analysis Version (Versione software di analisi)	La versione del software utilizzato per l'analisi.

La tabella seguente fornisce una descrizione di tutte le righe contenute nelle sezioni delle informazioni sui campioni:

Tabella 2 Informazioni sui campioni

Intestazione riga	Descrizione
Sample ID (ID campione)	Il nome del campione fornito al momento della creazione della corsa, assieme all'ID dell'analisi assegnato dal software Local Run Manager. Se una corsa viene rimessa in coda, la parte contenente il nome del campione di Sample ID (ID campione) rimane invariata, mentre viene modificato l'ID dell'analisi. Questo campo si trova solo nel file *.txt.
Sample Name (Nome campione)	Il nome del campione fornito al momento della creazione della corsa.
Control (Controllo)	Il tipo di campione di controllo fornito al momento della creazione della corsa. I valori sono positivi o negativi. Un campo vuoto indica solo campione.
Comment (Commento)	Campo di testo facoltativo per i commenti. I commenti della corsa di un'analisi precedente non vengono riportati nella corsa dell'analisi successiva.
Performance (Prestazioni)	Frequenza di Pass (Superato) o Fail (Non superato) in base alla percentuale di identificazione. Per un campione di controllo positivo: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Superato): con una percentuale di identificazione $\geq 99\%$ • FAIL (Non superato): con una percentuale di identificazione $< 99\%$ Per un campione di controllo negativo: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Superato): con una percentuale di identificazione $\leq 10\%$ • FAIL (Non superato): con una percentuale di identificazione $> 10\%$ Per un campione non etichettato come controllo positivo o negativo: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Superato): con una percentuale di identificazione $\geq 99\%$ • FAIL (Non superato): con una percentuale di identificazione $< 99\%$
Sample Call Rate (Percentuale di identificazione dei campioni)	Il numero di posizioni delle varianti che soddisfano un valore di soglia di affidabilità predefinito diviso per il numero totale di posizioni delle varianti interrogate. La percentuale di identificazione viene descritta in base al singolo campione e riportata come una percentuale che viene calcolata come 1 meno [numero di posizioni delle varianti con identificazioni incomplete diviso per il numero totale di posizioni delle varianti sequenziate].

La tabella seguente fornisce una descrizione di ogni colonna nelle sezioni delle varianti dei campioni:

Tabella 3 Informazioni sulle varianti dei campioni

Intestazione colonna	Descrizione
Mutations (Common Name) (Mutazione - Nome comune)	Nome comune della variante della fibrosi cistica descritta nel database CFTR2. Il nome del campo è Mutations (Common Name) (Mutazione - Nome comune) nel file *.txt.
Mutation Type (Tipo di mutazione)	Il tipo di variante. <ul style="list-style-type: none"> • SNV: variante di singolo nucleotide • DIV: variante inserzione delezione • DEL: ampia delezione • PolyTGPolyT: genotipo PolyTG/PolyT nel gene CF
dbSNP rsID (ID dbSNP rs)	ID dbSNP rs della variante, se applicabile.
CFTR Gene Region (Regione del gene CFTR)	Regione del gene CFTR (n. esone o n. introne) in cui è presente la variante.
Genomic Location (Posizione genomica)	Posizione genomica della variante nel cromosoma 7.
cDNA Name (HGVS) (Nome cDNA - HGVS)	Descrizione della variante a livello di DNA mediante la nomenclatura della sequenza di DNA codificante (cDNA) raccomandata dalla Human Genome Variation Society (HGVS). Il nome del campo è cDNA Name (HGVS) (Nome cDNA - HGVS) nel file *.txt.
Protein Name (HGVS) (Nome proteina - HGVS)	Descrizione di una variante a livello di proteina mediante la nomenclatura della sequenza proteica raccomandata dalla Human Genome Variation Society (HGVS). Il nome del campo è Protein Name (HGVS) (Nome proteina - HGVS) nel file *.txt.
Result (Risultato)	Genotipo della variante. Per le varianti SNV, DIV e DEL: <ul style="list-style-type: none"> • HET: eterozigosi • HOM: omozigosi Per le varianti PolyTG/PolyT, viene riportato il genotipo effettivo. NOTA: PolyTG/PolyT è riportato solo quando viene rilevata la variante R117H.
Interpretation (Interpretazione)	Questo campo viene sempre lasciato vuoto.

Assistenza Tecnica

Per ricevere assistenza tecnica, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.

Sito web: www.illumina.com
E-mail: techsupport@illumina.com

Numeri di telefono dell'Assistenza Clienti Illumina

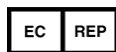
Area geografica	Numero verde	Locale
Nord America	+1.800.809.4566	
Australia	+1.800.775.688	
Austria	+43 800006249	+43 19286540
Belgio	+32 80077160	+32 34002973
Cina	400.066.5835	
Corea del Sud	+82 80 234 5300	
Danimarca	+45 80820183	+45 89871156
Finlandia	+358 800918363	+358 974790110
Francia	+33 805102193	+33 170770446
Germania	+49 8001014940	+49 8938035677
Giappone	0800.111.5011	
Hong Kong, Cina	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Norvegia	+47 800 16836	+47 21939693
Nuova Zelanda	0800.451.650	
Paesi Bassi	+31 8000222493	+31 207132960
Regno Unito	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapore	1.800.579.2745	
Spagna	+34 911899417	+34 800300143
Svezia	+46 850619671	+46 200883979
Svizzera	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan, Cina	00806651752	
Altri paesi	+44.1799.534000	

Schede dei dati di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS): sono disponibili sul sito Web Illumina all'indirizzo support.illumina.com/sds.html.

Documentazione sul prodotto: disponibile per il download all'indirizzo support.illumina.com.



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (fuori dal Nord America)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE Eindhoven
Paesi Bassi

Sponsor Australiano

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

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

© 2020 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

illumina®