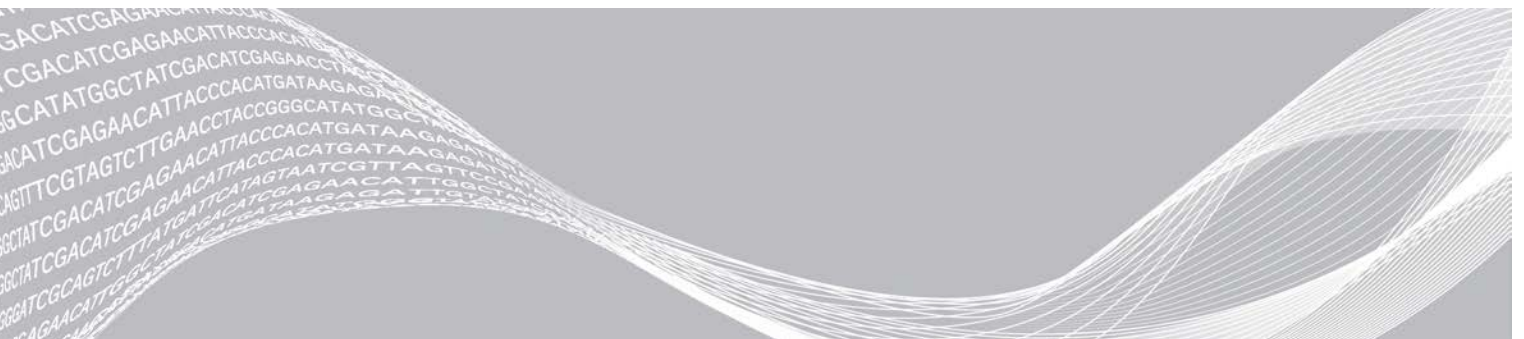


„VeriSeq NIPT“ analizės programinė įranga (16 mėginių)

Naudojimo vadovas



Šis dokumentas ir jo turinys priklauso „Illumina, Inc.“ ir jos filialams („Illumina“), jis skirtas tik klientui naudoti pagal sutartį, kiek tai susiję su čia aprašyto (-ų) produkto (-ų) naudojimu, ir jokių kitų tikslų. Šis dokumentas ir jo turinys negali būti naudojami ar platinami jokių kitų tikslų ir (arba) kitaip negali būti pateikiami, atskleidžiami ar atkuriami koku nors būdu be išankstinio rašytinio „Illumina“ sutikimo. „Illumina“ šiuo dokumentu neperduoda jokios trečiosios šalies licencijos pagal jos patentą, prekės ženklą, autorių teises, bendras teises nei panašių teisių.

Kvalifikuotas ir tinkamai išmokytas personalas turi griežtai ir aiškiai vadovautis šiame dokumente pateiktomis instrukcijomis, kad būtų užtikrintas tinkamas ir saugus šiame dokumente aprašyto (-ų) produkto (-ų) naudojimas. Prieš naudojant tokį (-ius) produktą (-us), visas šio dokumento turinys turi būti išsamiai perskaitytas ir suprastas.

JEI NEBUS PERSKAITYTOS VISOS ČIA PATEIKTOS INSTRUKCIJOS IR JOMIS NEBUS AIŠKIAI VADOVAUJAMASI, GALIMAS PRODUKTO (-Ų) PAŽEIDIMAS, NAUDOTOJO BEI KITŲ ASMENŲ SUŽEIDIMAS IR ŽALA KITAI NUOSAVYBEI, BE TO, TAI PANAIKINA PRODUKTUI (-AMS) TAIKOMOS GARANTIJOS GALIOJIMĄ.

„ILLUMINA“ NEPRISIIMA JOKIOS ATSAKOMYBĖS, JEI ČIA APRAŠOMAS (-I) PRODUKTAS (-AI) (ISKAITANT DALIS IR PROGRAMINĘ ĮRANGĄ) NAUDOJAMAS (-I) NETINKAMAI.

© 2020 m. „Illumina, Inc.“. Visos teisės saugomos.

Visi prekių ženklai yra „Illumina, Inc.“ arba atitinkamų savininkų nuosavybė. Informacijos apie konkrečius prekių ženklus ieškokite adresu www.illumina.com/company/legal.html.

Keitimo istorija

Dokumentas	Data	Keitimo aprašymas
Dokumento Nr. 1000000012693 v05	2020 m. balandis	Atnaujintas įgaliotojo atstovo ES adresas.
Dokumento Nr. 1000000012693 v04	2018 m. liepa	Įtraukta informacija apie procedūros apribojimus ir B priedas „Metodų palyginimo tyrimas“.
Dokumento Nr. 1000000012693 v03	2017 m. sausis	<ul style="list-style-type: none"> Vaisiaus frakcijos vertė – pridėtas papildomas vaisiaus frakcijos vertės paaiškinimas. 4 lentelė „Įprastos būsenos pakeitimo pranešimai ir prašymai atlikti veiksmus“ – pridėta pastaba prie EI. laiško turinio pavyzdžio, kai mėginių lape randama netinkamų mėginių ID. Mėginių lapo specifikacija ir patvirtinimo taisyklės – pakeistas antros pastabos turinys. 8 lentelė „Mėginio NGS 1 parinkties lapo patvirtinimo taisyklės (duomenų dalis)“ – pridėta „Mėginio ID negali būti tarpų. Venkite naudoti kelis pabraukimo brūkšnius ir brūkšnelius vieną šalia kito. Nuo 1.4 versijos Sample_ID (mėginio ID) negali prasidėti 0 (nuliu).“ prie patvirtinimo taisyklių mėginio ID eilutėje. 11 lentelė „Mėginio NGS 2 parinkties lapo patvirtinimo taisyklės (duomenų dalis)“ – pridėta „Mėginio ID negali būti tarpų. Venkite naudoti kelis pabraukimo brūkšnius ir brūkšnelius vieną šalia kito. Nuo 1.4 versijos Sample_ID (mėginio ID) negali prasidėti 0 (nuliu).“ prie patvirtinimo taisyklių mėginio ID eilutėje.
Dokumento Nr. 1000000012693 v02	2016 m. rugpjūtis	Atnaujintas turinys, skirtas v1.4 laidai
Dokumento Nr. 1000000012693 v01	2016 m. birželis	Atnaujinta: <ul style="list-style-type: none"> Įgaliotojo atstovo Europoje adresas ir CE IVD ženklas ant galinio viršelio. Sistemos apžvalga Sample_ID (mėginio ID) patvirtinimo taisyklės Pakartotinis įtraukimas į analizės eilę – pateiktas paaiškinimas ir trikčių šalinimo informacija
Dokumento Nr. 1000000012693 v00	2016 m. balandis	Pirmasis leidimas.

Turinys

1 skyrius Apžvalga	1
Sistemos apžvalga	1
„VeriSeq NIPT“ analizės programinės įrangos (16 mėginių) sąvokos	2
2 skyrius Sistemos naudojimas	5
Prisijungimas	5
Duomenų tvarkymas	5
Sekos nustatymo tyrimo suderinamumas	6
Darbo eigos skirtingam laikui ir saugyklai keliami reikalavimai	6
Sistemos duomenų srautas	7
Sistemos išjungimas	15
3 skyrius Analizė ir ataskaitos	16
Mėginių lapo specifikacija ir patvirtinimo taisyklės	16
Išskirstymas ir FASTQ generavimas	26
Pakartotinis įtraukimas į analizės eilę	27
Duomenų archyvavimas ir atsarginių kopijų kūrimas	29
Ataskaitų specifikacijos ir metrikos interpretavimas	30
ATMS veikimo tikrinimas	33
A priedas Kokybės kontrolės metrika	34
Kokybės kontrolės metrika ir viršutinė bei apatinė ribos (NGS 1 parinktis)	35
Kokybės kontrolės metrika ir viršutinė bei apatinė ribos (NGS 2 parinktis)	39
B priedas Metodų palyginimo tyrimas	44
Metodų palyginimo duomenys	44
Techninė pagalba	45

Apžvalga

Sistemos apžvalga	1
„VeriSeq NIPT“ analizės programinės įrangos (16 mėginių) sąvokos	2

Sistemos apžvalga

„VeriSeq NIPT“ analizės programinė įranga (16 mėginių) pateikiama įdiegta „VeriSeq NIPT“ analizės serveryje (16 mėginių), „Illumina“ katalogo numeris RH-400-1001. Serveris ir įdiegtoji programinė įranga – tai:

- ▶ Analizės serveris, galintis analizuoti sekų nustatymo duomenis, gautus naudojant iki 2 naujos kartos sekos nustatymo (NGS) instrumentų. 2 NGS instrumento parinktys:
 - ▶ Dviejų pratekamųjų kiuvėčių sekos nustatymo įtaisas, naudojantis 2 takelių pratekamašias kiuvėtes (NGS 1 parinktis).
 - ▶ Vienos pratekamosios kiuvėtės sekos nustatymo įtaisas, naudojantis 4 takelių pratekamašias kiuvėtes (NGS 2 parinktis).
- ▶ Programinės įrangos paketas, galintis analizuoti BCL formato sekos nustatymo duomenis, gautus sekos nustatymo programinės įrangos naudojantis bibliotekomis, parengtomis pagal cfDNA sekos nustatymo protokolus, siekiant aptikti vaisiaus aneuploidijas remiantis chromosomų vaizdu. Programinės įrangos paketą sudaro 2 komponentai:
 - ▶ **Analizės užduočių tvarkyklės tarnyba (Analysis Task Manager Service, ATMS)** – foninė tarnyba, kuri:
 - ▶ Stebi naujų tyrimo aplankų išvesties maršrutus.
 - ▶ Analizuoja tyrimų metaduomenis lygindama sekos nustatymo tyrimo parametrų konfigūraciją su iš anksto konfigūruotų analizės darbo eigų rinkiniu.
 - ▶ Įkelia mėginių lapą, susietą su kiekvienu sekos nustatymo tyrimu, susiedama atskirų mėginių identifikatorius konkrečioje pratekamojoje kiuvėtėje su indeksais.
 - ▶ Paruošia įvestis analizės procedūrai.
 - ▶ Atlieka šią procedūrą.
 - ▶ Stebi visus įvesties ir išvesties duomenis duomenų bazėje.
 - ▶ Sukuria kiekvieno atskiro mėginio pratekamojoje kiuvėtėje tyrimo ataskaitą.
 - ▶ **cADAS** – analizės procedūra, galinti aptikti vaisiaus aneuploidiją pagal sekos nustatymo duomenis, gautus iš cfDNA, kuri buvo išskirta iš motinos plazmos.
 - ▶ Analizuoja sekos nustatymo duomenis; apdorojimą sudaro derinimas, aprėpties skaičiavimas, duomenų normalizavimas ir apibendrinimas kiekvienos chromosomos lygmeniu.
 - ▶ Generuoja kiekvieno mėginio kokybės kontrolės (QC) metriką ir statusą „pavyko“, „nepavyko“ arba „įspėjimas“.
 - ▶ Generuoja balą, kuris apibūdina per daug arba per mažai atstovaujamą chromosomos medžiagą kiekvienoje iš tikslinių chromosomų.



PASTABA

Maksimalus leidžiamas nesėkmingų mėginių skaičius vienoje partijoje yra 4. Neapdorokite partijų atlikdami analizę, jei yra mažiau nei 11 tinkamų mėginių.

Taikymas

„VeriSeq NIPT“ analizės programinė įranga (16 mėginių) generuoja kiekybinius balus, kurie padeda aptikti ir atskirti 21, 18, 13, X ir Y chromosomų vaisiaus aneuploidijos būseną analizuojant sekos nustatymo duomenis, gautus iš neląstelinės DNR (cfDNA) fragmentų, išskirtų iš motinos periferinio visos sudėties kraujo mėginių, kai

nėščiosios yra pasiekusios bent 10 nėštumo savaitę.

Šie kiekybiniai balai – tai z balai, siejami su nepakankamu arba per dideliu tikslinės chromosomos atvaizdavimu, palyginti su numatomu diploidiniu genomu.

Procedūros apribojimai

- ▶ „VeriSeq NIPT“ analizės programinė įranga (16 mėginių) yra skirta naudoti kaip patikrinimo testo dalis, kuri neturėtų būti vertinama atskirai nuo kitų klinikinių tyrimų ir bandymų rezultatų. Naudotojo apibrėžtos ribinės vertės, taikomos šios programinės įrangos duomenų išvestims, turėtų atsižvelgti į santykinę padidėjusio jautrumo naudą, atsižvelgiant į specifiškumo vertę ir atvirkščiai. Nei viena ribinė vertė neužtikrina sutampančio 100 % jautrumo ir 100 % specifiškumo. Reti mėginiai su santykinai mažu sekos nustatymo gylio FF, kuriame jie buvo apdoroti, gali turėti duomenų išvestis greta slenksčio ir gali būti ne tokie tikslūs.
- ▶ „VeriSeq NIPT“ analizės programinė įranga (16 mėginių) stebi duomenis, naudojamus ataskaitose apie tai:
 - ▶ per didelis 21, 18 ir 13 chromosomų atvaizdavimas
 - ▶ nurodytos lyties chromosomų aneuploidijos: XO, XXX, XXY ir XYY
- ▶ „VeriSeq NIPT“ analizės programinė įranga (16 mėginių) nėra skirta naudoti poliploidijos ataskaitoms.
- ▶ „VeriSeq NIPT“ analizės programinės įrangos (16 mėginių) algoritmai gali būti sutrikdyti dėl tam tikrų motinos ir vaisiaus veiksnių, įskaitant, bet neapsiribojant:
 - ▶ neseniai atliktas kraujo perpylimas motinai
 - ▶ motinai atlikta organų transplantacija
 - ▶ motinai atlikta chirurginė procedūra
 - ▶ motinai atlikta imunoterapija arba kamieninių ląstelių terapija
 - ▶ motinos piktybiniai navikai
 - ▶ motinos mozaicizmas
 - ▶ apribotas placentos mozaicizmas
 - ▶ vaisiaus mirtis
 - ▶ dvynio mirtis
 - ▶ vaisiaus dalinė trisomija arba dalinė monosomija
 - ▶ vaisiaus mozaicizmas

„VeriSeq NIPT“ analizės programinės įrangos (16 mėginių) sąvokos

Aptariant „VeriSeq NIPT“ analizės programinę įrangą (16 mėginių) dažnai vartojamos toliau nurodytos sąvokos.

Sąvoka	Aprašymas
cADAS	Analizės srauto programinė įranga. Serverio pusės programa, naudojama analizuojant sekos nustatymo duomenis ir aptinkant aneuploidiją.
cfDNA	DNR be ląstelių – tai iš motinos ir vaisiaus kilusi DNR, laisvai cirkuliuojanti motinos kraujo sraute. cfDNA analizė – tai neinvazinių prenatalinių tyrimų metodas.
Tyrimo aplankas	Aplankų struktūra, sukurta NGS sekos nustatymo instrumente ir užpildoma RTA (analizės tikroju laiku) pirmine duomenų analize.

Sąvoka	Aprašymas
Mėginių lapas	Kableliais atskirtų verčių failas (*.csv), kuriame pateikiama informacija, reikalinga konfigūruojant ir analizuojant sekos nustatymo tyrimą, įskaitant mėginių ir jų indeksų sekų sąrašą.
Darbo eiga	Analizės procesas, kuriuo analizuojami sekos nustatymo tyrimai, atlikti „VeriSeq NIPT“ analizės programinėje įrangoje (16 mėginių). Kiekvieno tyrimo darbo eiga nurodoma mėginių lape.

Analizės programinės įrangos apžvalga

„VeriSeq NIPT“ analizės programinė įranga (16 mėginių) vertina tyrimo chromosomų kopijų skaičių bandomuosiuose mėginiuose. Analizės įvestis yra 36 bazių skaitymai, generuojami naujos kartos sekos nustatymo instrumentu. Skaitymai yra pritaikyti visam žmogaus genomui. Tolesnei analizei naudojami tik skaitymai, atitinkantys unikalią vietą genome. Pasikartojantys skaitymai pašalinami iš analizės. Skaitymai papildomai filtruojami siekiant pašalinti vietas, kuriose pastebimas didelis aprėpties variantiškumas euploidiniuose mėginiuose. Pirminė aprėptis koreguojama atliekant normalizavimą pagal GC kiekį ir kitus veiksnius subchromosomų lygmeniu, o tada apibendrinama chromosomų lygmeniu taikant patikimą aprėpties vidurkį palei chromosomą.

Tyrimo chromosomos apima 21, 18 ir 13, X ir Y. Normalizuota tyrimo chromosomų aprėptis normalizuojama pagal iš anksto nustatytas atskaitas (vardiklio) chromosomas siekiant sukurti tyrimo chromosomų santykį (R). Iš anksto nustatytos vardiklio chromosomos optimizuojamos siekiant kuo labiau sumažinti euploidinių mėginių chromosomų santykių variantiškumą. Tyrimo mėginių chromosomų santykiai konvertuojami į normalizuotas chromosomų vertes (NCV) taikant korekciją pagal pratekamąją kiuvetę sureguliuotam santykio vidurkiui ir keičiant mastelį pagal iš anksto nustatytą numatomą variantiškumą normaliuose euploidiniuose mėginiuose (įvertintą pagal mokymo duomenis).

1 pav. Tyrimo chromosomų santykio (R) pavyzdys

$$R = \frac{X^{21}}{X^4 + X^7 + X^{15} \dots}$$

Normalizuota chromosomų vertė (NCV) nustatoma naudojantis lygtimi, parodyta 2 pav. NCV vertė atitinka z balą. Z balas apibūdina skirtumą tarp vertės ir populiacijos vidurkio remiantis standartiniu nuokrypiu. Mėginio aprašymo kaip nepaveikto arba paveikto pagal NCV ribinę vertę klientai nustato prieš klinikinį darbo eigos patvirtinimą, ją galima koreguoti remiantis klinikinio patvirtinimo tyrimo rezultatais.

2 pav. Normalizuota chromosomos vertė (NCV)

$$NCV_{ik} = \frac{R_{ik} - \overline{R_{Ui}}}{\sigma_{Ui}}$$

i – chromosoma

k – mėginys

U – nepaveiktas mėginys

R_{ik} – chromosomų santykis i k -ajame mėginyje

$\overline{R_{Ui}}$ – pagal pratekamąją kiuvetę sureguliuotas vidutinis chromosomų santykis

σ_{Ui} – chromosomų santykio i standartinis nuokrypis nepaveiktuose mėginiuose remiantis mokymo duomenų rinkiniu

Vaisiaus frakcijos vertė

Vaisiaus frakcija – tai neląstelinė DNR, cirkuliuojanti motinos kraujo mėginyje, kuri buvo gauta iš placentos. „VeriSeq NIPT“ analizės programinė įranga apskaičiuoja vaisiaus frakcijos vertę pagal motinos ir vaisiaus cfDNA genomines aprėpties skirtumus¹.

„VeriSeq NIPT“ analizės programinė įranga (16 mėginių) naudodama sekos nustatymo metu gautus statistinius duomenis pateikia kiekvieno mėginio vaisiaus frakcijos vertę (FFE). FFE – tai apytikslis vaisiaus cfDNA komponentas, atkurtas tyrimo metu ir nurodomas kaip kiekvieno mėginio suapvalinta procentinė vertė. Šios vertės vidutinis standartinis nuokrypis vertinant visus mėginius yra 2 %. FFE negalima naudoti atskirai siekiant atmesti mėginius, kai nurodomi rezultatai.

¹Kim, S.K., et al, Determination of fetal DNA fraction from the plasma of pregnant women using sequence read counts, Prenatal Diagnosis Aug 2015; 35(8):810-5. doi: 10.1002/pd.4615

Sistemos naudojimas

Prisijungimas	5
Duomenų tvarkymas	5
Sekos nustatymo tyrimo suderinamumas	6
Darbo eigos skirtingam laikui ir saugyklai keliami reikalavimai	6
Sistemos duomenų šaltinis	7
Sistemos išjungimas	15

Prisijungimas

Analizės serveris yra konfigūruotas kaip „Linux CentOS 6.6“ kompiuteris su sbsuser paskyra.

Prisijungimas prie serverio nėra įprasto darbo dalis. Jo reikia tik paleidžiant iš naujo arba išjungiant kompiuterį.

Prisijunkite prie serverio naudodamiesi terminalu arba ssh jungtimi, naudokite šiuos pradinis prisijungimo duomenis:

- ▶ „User Name“ (naudotojo vardas) – sbsuser
- ▶ „Password“ (slaptažodis) – norėdami sužinoti slaptažodį, išsiųskite el. laišką „Illumina“ techninės pagalbos tarnybai.
- ▶ „Group“ (grupė) – sbsuser

Duomenų tvarkymas

Analizės serveryje numatyta tinklo bendrinimo paslaugos sąranka, leidžianti pasiekti standųjį diską iš „Windows“ sistemų naudojant „samba“ bendrinimo protokolą. „Samba“ bendrinimo numatytasis naudotojo vardas yra „sbsuser“, o pradinis slaptažodis „sbs123“. Disko bendrinimas šiai naudotojo paskyrai per „samba“ protokolą suteikia galimybę pasiekti šiuos bendrai naudojamus objektus:

Vieta „Linux“ serveryje	Bendrinimo pavadinimas	Naudotojo vardas	Pradinis slaptažodis	Prieigos teisės
/data01/runs	runs	sbsuser	Norėdami sužinoti slaptažodį, siųskite el. laišką „Illumina“ techninės pagalbos tarnybai.	Skaitymas / rašymas
/data01/analysis_output	analysis_output	sbsuser	Norėdami sužinoti slaptažodį, siųskite el. laišką „Illumina“ techninės pagalbos tarnybai.	Skaitymas

Atlikdami sekos nustatymo sąranką nustatykite išvestį kataloge runs. Eikite į \\<SERVER.IP.ADDRESS>\runs naudodamiesi sekos nustatymo instrumento valdymo programinės įrangos tyrimo sąrankos ekranais, o <SERVER.IP.ADDRESS> yra vietinio serverio IP adresas.

Kataloge analysis_output yra visų pratekamųjų kiuvečių, apdorotų naudojant cfDNA analizės darbo eigą, ataskaitos. Sistema tvarko ataskaitas pagal pradinį tyrimo aplanko pavadinimą, sukurtą sekos nustatymo programinėje įrangoje, ir prideda prie jo analizės datą bei laiką.

Pavyzdžiui, analizuojant ciklą 140806_SN7001227_0199_AHABHTADXX generuojamas išvesties aplankas, pavadintas 140806_SN7001227_0199_AHABHTADXX_140806_230337.

Naudokite jūsų sekos nustatymo sistemoje numatytą tyrimo aplanko pavadinimų formatą. „VeriSeq NIPT“ analizės programinėje įrangoje reikalaujama, kad tyrimo aplanko pavadinime būtų tik šie raidiniai ir skaitiniai simboliai: a–z, A–Z, 0–9 ir pabraukimo brūkšniai („_“). Tarpai ir kiti simboliai neleidžiami.

Sekos nustatymo tyrimo suderinamumas

Serveris analizuoja tik sekos nustatymo tyrimus, kurie yra suderinami su cfDNA analizės darbo eiga.

Konfigūruokite sekos nustatymą naudodami suderinamus skaitymo parametrus.

NGS 1 parinktis:

- ▶ „Read 1“ (1 skaitymas) – 36 bazės
- ▶ „Index 1 (i7)“ (1 indeksas (i7)) – 7 bazės

NGS 2 parinktis:

- ▶ „Read 1“ (1 skaitymas) – 36 bazės
- ▶ „Index 1 (i7)“ (1 indeksas (i7)) – 6 bazės

Bazių išskvietoms generuoti naudokite tik suderinamus sekos nustatymo metodus ir programinės įrangos versijas.



PASTABA

Reguliariai stebėkite sekos nustatymo duomenų efektyvumo metriką ir įsitinkite, kad duomenų kokybė atitinka specifikaciją.

1 lent. Su NGS 1 parinktimi suderinami sekos nustatymo metodai ir programinės įrangos versijos

Parametras	Suderinama vertė
SBS	„TruSeq Rapid SBS“ rinkinys „TruSeq Rapid SBS“ rinkinys v1 arba „HiSeq Rapid SBS“ rinkinys v2
Indeksas	„TruSeq Rapid SR“ klasterių rinkinys „TruSeq Rapid SR“ klasterių rinkinys v1 arba „HiSeq Rapid SR“ klasterių rinkinys v2
Klasterių pasirinkimas	OnBoardClustering
Programos pavadinimas	„HiSeq“ valdymo programinė įranga
Programos versija	2.0.12, 2.2.38 arba 2.2.58
FPGA versija	3.10.3, 7.7.2.5 arba 7.9.7
RTA versija	1.17.21, 1.18.61 arba 1.18.64

2 lent. Su NGS 2 parinktimi suderinami sekos nustatymo metodai ir programinės įrangos versijos

Parametras	Suderinama vertė
Programos pavadinimas	„NextSeq“ valdymo programinė įranga
Programos versija	1.3.0, 2.0.0 arba 2.1.0
RTA versija	2.1.3, 2.4.6 arba 2.4.11

Darbo eigos skirtajam laikui ir saugyklai keliami reikalavimai

cfDNA analizės darbo eigai taikomi toliau nurodyti skirtojo laiko ir saugyklos apribojimai.

3 lent. Darbo eigos skirtajam laikui ir saugyklai keliami reikalavimai

Parametras	Numatytoji vertė
Maksimalus tyrimo parametrų laukimo laikas	4 val.
Maksimalus sekos nustatymo laikas	20 val.

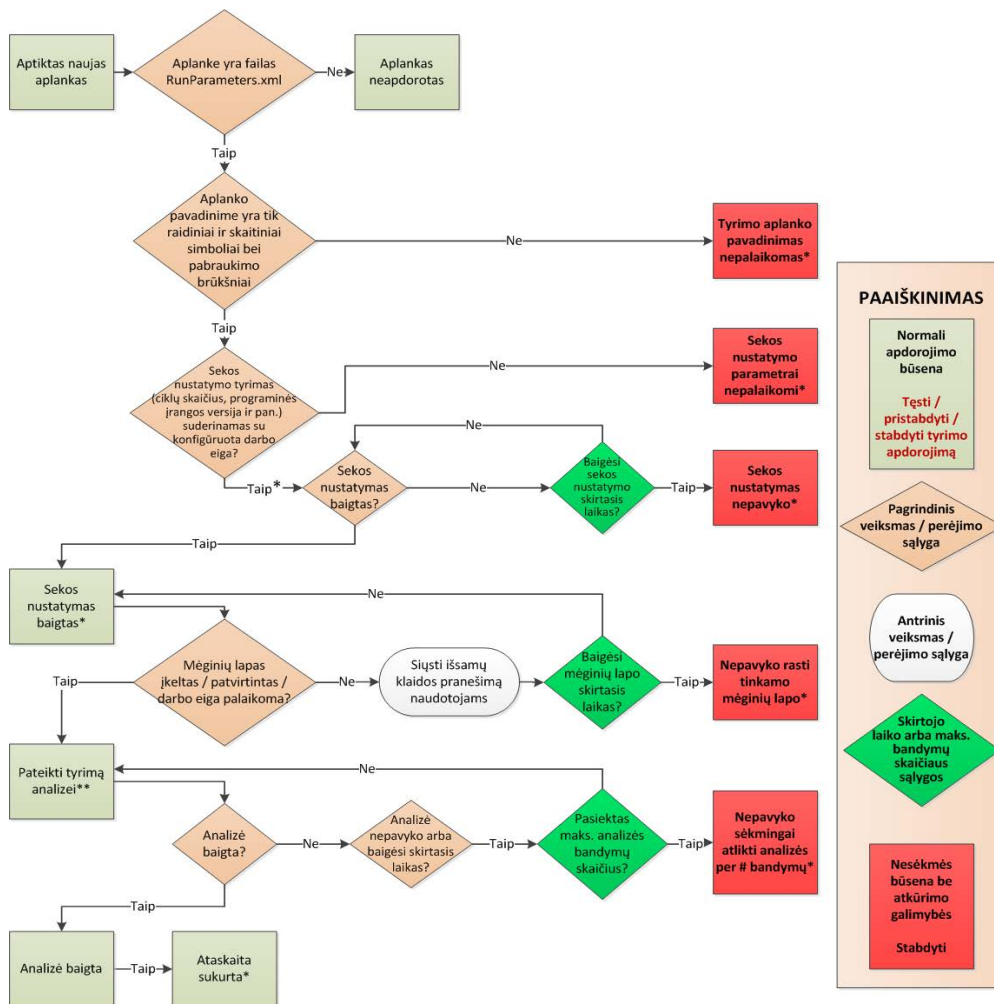
Parametras	Numatytoji vertė
Maksimalus mėginių lapo laukimo laikas	96 val.
Maksimalus analizės laikas	3,5 val.
Minimalus darbinės saugyklos dydis	200 GB

Sistemos duomenų srautas

Įprastomis sąlygomis ATMS siunčia sekos nustatymo tyrimo ir analizės būsenos pranešimus naudotojams kaip el. laiškus. 3 pav parodytas duomenų srautas sistemoje ir būsenos, taip pat atitinkami el. pašto pranešimai.

- ▶ **Pilki stačiakampiai** – įprasto apdorojimo būsenos
- ▶ **Rombai** – pagrindinės perėjimo į kitą būseną sąlygos
- ▶ **Ovalas** – papildoma perėjimo į kitą būseną sąlyga
- ▶ **Raudoni stačiakampiai** – trikčių būsenos

3 pav. Duomenų srauto diagrama



* Sistema generuoja el. pašto pranešimą.

** Jei serveryje nepakanka vietos, sistema generuoja el. pašto pranešimą.

Įprasto apdorojimo metu **ATMS**:

- ▶ Stebi savo numatytąjį katalogą (/data01/runs) tikrindama, ar nėra naujų sekos nustatymo tyrimų. Nauji sekos nustatymo tyrimai apibrėžiami kaip aplankai, kuriuose yra failas runParameters.xml **[NGS 1 parinktį]** arba failas RunParameters.xml **[NGS 2 parinktį]**.
- ▶ Patikrina, ar sekos nustatymo tyrimo parametrai suderinami su iš anksto nustatytomis analizės darbo eigomis.
- ▶ Įkelia mėginių lapą.
- ▶ Planuoja ir vykdo analizės apdorojimą, o tada generuoja galutines ataskaitas.

Vienu metu analizė atliekama vienoje pratekamojoje kiuvetėje. Kitos pratekamosios kiuvetės, kurios laukia analizės, įtraukiamos į eilę serveryje, jų analizė atliekama jų įdėjimo tvarka.

Sistemos pranešimai

Sistema siunčia el. pašto pranešimus asmenims arba el. laiškų gavėjų grupėms, nustatytoms serverio diegimo metu. „Illumina“ rekomenduoja naudoti el. laiškų gavėjų grupes, kurias gali keisti el. pašto administratorius. Jei konfigūravote atskirus el. paštus adresus, analizės serverio el. pašto konfigūraciją reikia pakeisti, jei pasikeičia naudotojai. El. pašto pranešimuose nurodoma būseną įprasto veikimo metu, o analizės metu kilus bet kokioms klaidoms, naudotojui pateikiamas įspėjimas.

4 lent aprašomi įvairūs sistemos siunčiami el. pašto pranešimai. Lentelėje nurodytos pavadinimų suteikimo taisyklės reikalingos „VeriSeq NIPT“ analizės programinėje įrangoje siekiant importuoti NGS išvesties failus.



PASTABA

Įsitikinkite, kad jūsų el. pašto šiukšlių nuostatos leidžia priimti el. pašto pranešimus nuo serverio. El. pašto pranešimai siunčiami iš paskyros `atms@<kliento el. pašto domenas>`, kur `<kliento el. pašto domenas>` nurodo jūsų vietinė IT specialistų komanda, kai serveris diegiamas.

4 lent. Įprastos būsenos pakeitimo pranešimai ir prašymai atlikti veiksmus

Sąlyga	Įprastas veikimas / įspėjimas / klaida	El. pašto pranešimo turinio pavyzdys
<p>Sekos nustatymas pradėtas. Šis pranešimas siunčiamas, kai serveris aptinka naują tyrimo aplanką. Tyrimo aplanke yra tyrimo parametrų failas, kuris rodo, kad sekos nustatymas prasidėjo naudojant atitinkamus sekos nustatymo parametrus. Tyrimo parametrų failo pavadinimas: [NGS 1 parinktis] runParameters.xml [NGS 2 parinktis] RunParameters.xml</p>	Įprastas darbas	<p>Sekos nustatymo tyrimo aplanko pavadinimas: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sekos nustatymo tyrimo būseną: sekos nustatymas pradėtas Sekos nustatymo pradžios laikas: 2014-05-12 08:15 PDT Sekos nustatymo atlikimo laikas: netaikoma Darbo eigos pavadinimas: netaikoma Suplanuotas analizės laikas: netaikoma Analizės pradžios laikas: netaikomas Analizės baigimo laikas: netaikoma Analizės išvesties katalogas: netaikoma</p>
<p>Sekos nustatymo tyrimas baigtas.</p>	Įprastas darbas	<p>Sekos nustatymo tyrimo aplanko pavadinimas: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sekos nustatymo tyrimo būseną: sekos nustatymas atliktas Sekos nustatymo pradžios laikas: 2014-05-12 08:15 PDT Sekos nustatymo atlikimo laikas: 2014-05-12 08:16 PDT Darbo eigos pavadinimas: netaikoma Suplanuotas analizės laikas: netaikoma Analizės pradžios laikas: netaikomas Analizės baigimo laikas: netaikoma Analizės išvesties katalogas: netaikoma</p>
<p>Sekos nustatymo tyrimo parametrai nepalaikomi.</p>	Klaida (neištaisoma)	<p>Sekos nustatymo tyrimo parametrų sekos nustatymo tyrimui „140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX“ nepalaiko jokia konfigūruota darbo eiga. Šis sekos nustatymo tyrimo aplanke nebus apdorojamas. Žiūrėkite šias klaidas: Darbo eigos pavadinimas: [NGS 1 parinktis] cfDNAHiSeqv1.0 [NGS 2 parinktis] cfDNAExtSeqv1.0 Aptikta neatitinkančių sekos nustatymo tyrimo parametrų: NumCycles2, NumIndexed2 Aptikta NumCycles2 vertė: 10, numatyta vertė: 7 Aptikta NumIndexed2 vertė: 10, numatyta vertė: 7</p>

Sąlyga	Įprastas veikimas / įspėjimas / klaida	El. pašto pranešimo turinio pavyzdys
Mėginių lape aptiktas netinkamas pratekamosios kiuvetės brūkšninis kodas.	Įspėjimas (galima ištaisyti per 96 valandas)	Sekos nustatymo tyrimo „140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX“ mėginių lapas, aptiktas sekos nustatymo tyrimo aplanke, lėmė šią klaidą: Pratekamosios kiuvetės ID (brūkšninis kodas), įrašytas mėginių lape (laukelyje „Bandymo pavadinimas“), yra ". Šis brūkšninis kodas turi būti toks pat kaip brūkšninis kodas, susietas su tyrimo aplanke „H8HT6ADXX“. Norėdami tęsti analizę, ištaisykite klaidą. Mėginių lapas bus įkeltas dar kartą maždaug po 1 minutės. Mėginių lapas yra tyrimo aplanke „/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX“.
Mėginių lapo „Aprašymo“ antraštės eilutėje nurodyta nepalaikoma darbo eiga.	Įspėjimas (galima ištaisyti per 96 valandas)	Sekos nustatymo tyrimo „140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX“ mėginių lapas, aptiktas sekos nustatymo tyrimo aplanke, lėmė šią klaidą: Darbo eigos, nurodytos mėginių lape „NIP-T template1“, nepalaiko jokia konfigūruota darbo eiga. Palaikomi darbo eigų pavadinimai yra: [NGS 1 parinktis] cfDNAHiSeqv1.0 [NGS 2 parinktis] cfDNAExtSeqv1.0 Norėdami tęsti analizę, ištaisykite klaidą. Mėginių lapas bus įkeltas dar kartą maždaug po 1 minutės. Mėginių lapas yra tyrimo aplanke „/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX“.
Sekos nustatymo tyrimo aplanke nėra failo SampleSheet.csv.	Įspėjimas (galima ištaisyti per 96 valandas)	Sekos nustatymo tyrimo „140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX“ mėginių lapas, esantis sekos nustatymo tyrimo aplanke, lėmė šią klaidą: „/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX/SampleSheet.csv (tokio failo arba katalogo nėra)“. Norėdami tęsti analizę, ištaisykite klaidą. Mėginių lapas bus įkeltas dar kartą maždaug po 1 minutės. Mėginių lapas yra tyrimo aplanke „/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX“.

Sąlyga	Įprastas veikimas / įspėjimas / klaida	El. pašto pranešimo turinio pavyzdys
Mėginių lape aptikta netinkamų mėginių ID	Klaida (ištaisoma pakeičiant mėginių ID)	Atliekant sekos nustatymo tyrimo „160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX“ mėginių lapo, esančio sekos nustatymo tyrimo aplanke, analizę pranešta apie šią klaidą (-as): Klaida: aptikta netinkamų mėginio ID (yra kitokių simbolių nei raidės ir skaičiai / brūkšneliai / pabraukimo brūkšniai). Netinkamos mėginio ID vertės: plazmos kontrolė Norėdami tęsti analizę, ištaisykite klaidą. Mėginių lapas bus įkeltas dar kartą maždaug po 1,0 minutės. Mėginių lapas turėtų būti tyrimo aplanke „/data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX“. Pastaba: ši klaida nustatoma, jei mėginių lape yra netinkamų simbolių, įskaitant tarpus.
Mėginių lape nėra antraštės eilutės.	Įspėjimas (galima ištaisyti per 96 valandas)	Bandant įkelti sekos nustatymo tyrimo „140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX“ mėginių lapą įvyko ši klaida: Klaida: netinkama mėginių lapo antraštė. Nėra privalomų laukų: aprašymas Norėdami tęsti analizę, ištaisykite klaidą. Mėginių lapas bus įkeltas dar kartą maždaug po 1 minutės. Mėginių lapas yra tyrimo aplanke „/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX“.

Sąlyga	Įprastas veikimas / įspėjimas / klaida	El. pašto pranešimo turinio pavyzdys
Mėginių lape yra pasikartojančių indekso verčių	Klaida (ištaisoma pakeičiant mėginių lapą)	<p>Analizuojant sekos nustatymo tyrimo „140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2“ mėginių lapą, esantį sekos nustatymo tyrimo aplanke, įvyko ši (-ios) klaida (-os):</p> <p>Klaida: aptikta pasikartojanti indekso vertė: ACTGAT (A025) takeliui: 1</p> <p>Aptiktas netinkamas mėginio įrašas: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 indeksui: ACTGAT</p> <p>Aptikta pasikartojanti indekso vertė: ATTCCT (A027) takeliui: 1</p> <p>Aptiktas netinkamas mėginio įrašas: S113_S113__B7_A027_ATTCCCT__Test_62 indeksui: ATTCCT</p> <p>Aptikta pasikartojanti indekso vertė: ACTGAT (A025) takeliui: 2</p> <p>Aptiktas netinkamas mėginio įrašas: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 indeksui: ACTGAT</p> <p>Aptikta pasikartojanti indekso vertė: ATTCCT (A027) takeliui: 2</p> <p>Aptiktas netinkamas mėginio įrašas: S113_S113__B7_A027_ATTCCCT__Test_62 indeksui: ATTCCT</p> <p>Norėdami tęsti analizę, ištaisykite klaidą. Mėginių lapas bus įkeltas dar kartą maždaug po 1,0 minutės.</p> <p>Mėginių lapas turėtų būti tyrimo aplanke „/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2“.</p>
Takelio vertės nėra arba ji netinkama (tik NGS 1 parinktį)	Klaida (ištaisoma pakeičiant mėginių ID)	<p>Analizuojant sekos nustatymo tyrimo „140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY“ mėginių lapą, esantį sekos nustatymo tyrimo aplanke, įvyko ši (-ios) klaida (-os):</p> <p>Klaida: aptikta netinkama takelio vertė eilutėje: 47.</p> <p>Netinkama vertė: aptikta netinkama takelio vertė eilutėje: 47.</p> <p>Netinkama vertė: aptikta netinkamų mėginio ID (yra kitokių simbolių nei raidės ir skaičiai / brūkšneliai / brūkšniai). Netinkamos mėginio ID vertės: <blank></p> <p>Norėdami tęsti analizę, ištaisykite klaidą. Mėginių lapas bus įkeltas dar kartą maždaug po 1,0 minutės.</p> <p>Mėginių lapas turėtų būti tyrimo aplanke „/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY“.</p>

Sąlyga	Įprastas veikimas / įspėjimas / klaida	El. pašto pranešimo turinio pavyzdys
<p>Sekos nustatymo tyrimas nepavyko. Nėra RTA atlikimo failo.</p> <p>Šis pranešimas siunčiamas, jei RTA atlikimo failas nerandamas po 20 valandų.</p>	<p>Klaida (neištaišoma – RTAComplete.txt failas po maks. 20 laukimo valandų)</p>	<p>Sekos nustatymo tyrimo aplanko pavadinimas: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_D12_NO_RTAComplete_TC_SC_3</p> <p>Sekos nustatymo tyrimo būseną: sekos nustatymas nepavyko</p> <p>Sekos nustatymo pradžios laikas: 2014-05-12 19:45 PDT</p> <p>Sekos nustatymo atlikimo laikas: netaikoma</p> <p>Darbo eigos pavadinimas: netaikoma</p> <p>Suplanuotas analizės laikas: netaikoma</p> <p>Analizės pradžios laikas: netaikomas</p> <p>Analizės baigimo laikas: netaikoma</p> <p>Analizės išvesties katalogas: netaikoma</p>
<p>Analizė prasidėjo.</p> <p>Šis pranešimas siunčiamas, kai analizė prasideda. Jis pateikiamas, kai rodoma „RTA Complete“ (RTA atlikta), ir taip paleidžiama analizė. Analizė trunka 1–2 valandas.</p>	<p>Įprastas darbas</p>	<p>Sekos nustatymo tyrimo aplanko pavadinimas: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX</p> <p>Sekos nustatymo tyrimo būseną: analizė prasidėjo</p> <p>Sekos nustatymo pradžios laikas: 2014-05-12 19:45 PDT</p> <p>Sekos nustatymo atlikimo laikas: 2014-05-12 19:55 PDT</p> <p>Darbo eigos pavadinimas:</p> <p>[NGS 1 parinktis] cfDNAHiSeqv1.0</p> <p>[NGS 2 parinktis] cfDNAExtSeqv1.0</p> <p>Suplanuotas analizės laikas: 2014-05-12 20:05 PDT</p> <p>Analizės pradžios laikas: 2014-05-12 20:06 PDT</p> <p>Analizės baigimo laikas: netaikoma</p> <p>Analizės išvesties katalogas: netaikoma</p>
<p>Analizė nepavyko</p> <p>Sistema automatiškai kartuoja tyrimo apdorojimą 3 kartus.</p>	<p>Įspėjimas (ištaišomas bandant atlikti analizę iš naujo – ATMS pakartotinai įtraukia tyrimą į apdorojimo eilę iki 3 kartų)</p>	<p>Sekos nustatymo tyrimo aplanko pavadinimas: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX</p> <p>Sekos nustatymo tyrimo būseną: analizė nepavyko. Ji bus automatiškai pradėta iš naujo siekiant pakartotinai apdoroti tyrimą.</p> <p>Sekos nustatymo pradžios laikas: 2014-05-11 08:26 PDT</p> <p>Sekos nustatymo atlikimo laikas: 2014-05-11 08:27 PDT</p> <p>Darbo eigos pavadinimas:</p> <p>[NGS 1 parinktis] cfDNAHiSeqv1.0</p> <p>[NGS 2 parinktis] cfDNAExtSeqv1.0</p> <p>Suplanuotas analizės laikas: 2014-05-11 08:47 PDT</p> <p>Analizės pradžios laikas: 2014-05-11 08:57 PDT</p> <p>Analizės pabaigos laikas: 2014-05-11 08:59 PDT</p> <p>Analizės išvesties katalogas: netaikoma</p>

Sąlyga	Įprastas veikimas / įspėjimas / klaida	El. pašto pranešimo turinio pavyzdys
Nepavyko maksimalus analizės bandymų skaičius. Šis pranešimas siunčiamas po trečio nesėkmingo bandymo atlikti analizę.	Klaida (neištaišoma)	Sekos nustatymo tyrimo aplanko pavadinimas: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_TC_A_3 Sekos nustatymo tyrimo būseną: išnaudotas maksimalus analizės bandymų skaičius. Kreipkitės į „Illumina“ techninės pagalbos tarnybą. Sekos nustatymo pradžios laikas: 2014-05-13 07:00 PDT Sekos nustatymo atlikimo laikas: 2014-05-13 07:01 PDT Darbo eigos pavadinimas: [NGS 1 parinktį] cfDNAHiSeqv1.0 [NGS 2 parinktį] cfDNANextSeqv1.0 Suplanuotas analizės laikas: 2014-05-13 07:09 PDT Analizės pradžios laikas: 2014-05-13 07:11 PDT Analizės pabaigos laikas: 2014-05-13 07:12 PDT Analizės išvesties katalogas: netaikoma
Tyrimo aplanko pavadinime yra neleistinų simbolių.	Klaida (ištaisoma pašalinant neleistinus simbolius)	Aptiktas netinkamas sekos nustatymo tyrimo aplanko pavadinimas: „140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX“ Sekos nustatymo tyrimo aplanko pavadinime gali būti tik šie raidiniai-skaitiniai simboliai: a–z, A–Z, 0–9 ir pabraukimo brūkšniai („_“). Tarpai ir kiti simboliai neleidžiami. Šis sekos nustatymo tyrimo aplankas nebus apdorojamas. Norėdami vėl įtraukti tyrimą į analizės eilę, ištaisykite tyrimo aplanko pavadinimą.
Sukurta cfDNA sekos nustatymo ataskaita.	Įprastas darbas	Sekos nustatymo tyrimo aplanko pavadinimas: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sekos nustatymo tyrimo būseną: ataskaitos sukurtos Sekos nustatymo pradžios laikas: 2014-05-12 19:45 PDT Sekos nustatymo atlikimo laikas: 2014-05-12 19:55 PDT Darbo eigos pavadinimas: [NGS 1 parinktį] cfDNAHiSeqv1.0 [NGS 2 parinktį] cfDNANextSeqv1.0 Suplanuotas analizės laikas: 2014-05-12 20:05 PDT Analizės pradžios laikas: 2014-05-12 20:06 PDT Analizės pabaigos laikas: 2014-05-12 21:24 PDT Analizės išvesties katalogas: /data01/analysis_output/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_140512_200514

Sistemos išjungimas

Atkūrimas po netikėto išjungimo

Jei atliekant analizę nutrūksta elektros tiekimas arba naudotojas netyčia išjungia sistemą, sistema:

- ▶ Automatiškai paleidžia programinę įrangą iš naujo, kai techninė įranga vėl įjungžiama;
- ▶ Paskutinę analizę, vykdytą išjungimo metu, pripažįsta nepavykusia ir iš naujo įtraukia ją į apdorojimo eilę;
- ▶ Generuoja išvestį, kai analizė sėkmingai baigiama.



PASTABA

Jei analizė nepavyksta, programinė įranga leidžia iš naujo pateikti tyrimą analizei iki 3 kartų.

Analizė ir ataskaitos

Mėginių lapo specifikacija ir patvirtinimo taisyklės	16
Išskirstymas ir FASTQ generavimas	26
Pakartotinis įtraukimas į analizės eilę	27
Duomenų archyvavimas ir atsarginių kopijų kūrimas	29
Ataskaitų specifikacijos ir metrikos interpretavimas	30
ATMS veikimo tikrinimas	33

Mėginių lapo specifikacija ir patvirtinimo taisyklės

Šiame skyriuje pateikiamos instrukcijos, kaip sukurti mėginių lapą, kurio reikia analizuojant tyrimo aplanką „VeriSeq NIPT“ analizės programinėje įrangoje. Vadovaukitės instrukcijomis, skirtomis jūsų naudojamai NGS parinkčiai.



PASTABA

Patikrinkite, ar mėginio ID sąsajos su atitinkamais indeksais yra tikslios. Tikslios sąsajos būtinos mėginio vientisumui išlaikyti. Kitas asmuo (ne tas, kuris sukūrė mėginių lapą) turi jį patikrinti prieš pradėdamas sekos nustatymo tyrimą. Dėl bet kokių klaidų susiejant mėginius su reikiama indeksais netinkamai identifikuotų mėginių rezultatai gali būti nurodyti neteisingai.



PASTABA

Į mėginių partiją būtinai įtraukite proceso ir neigiamą (be šablono) kontrolę. Proceso kontrolę (bet ne neigiamą kontrolę) reikia įtraukti į bibliotekos rinkinį ir identifikuoti kaip to paties tipo kontrolę mėginių lape. Neįtraukite neigiamos kontrolės į mėginių partiją arba mėginių lapą.

NGS 1 parinktis

„VeriSeq NIPT“ analizės programinėje įrangoje (16 mėginių) reikia mėginių lapo kiekvienai pratekamajai kiuvetei. Naudojant NGS 1 parinktį darbo eigą, mėginių lapai įkeliami atliekant sekos nustatymo tyrimo sąranką ir padedami išvesties aplanke kaip „SampleSheet.csv“. Šio lapo šablonas – tai kableliais atskirtų verčių failas, kuriame yra 2 dalys: antraštė, kurioje fiksuojama tyrimo lygio informacija, ir duomenų dalis, kurioje fiksuojami specifiniai mėginio atributai. NGS 1 parinktis naudoja 2 takelių pratekamąją kiuvetę. Abiejuose takeliuose (1 ir 2) apdorojamas tas pats mėginių rinkinys. Įvedant mėginio informaciją mėginių lape kiekvieną Sample_ID (mėginio ID), šulinėlio ir indekso derinį reikia įvesti ir 1, ir 2 takelyje. Sample_ID (mėginio ID), šulinėlio ir indekso derinys takelyje turi būti unikalūs.

Patikrinkite, ar mėginio ID sąsajos su atitinkamais indeksais yra tikslios. Tikslios sąsajos būtinos mėginio vientisumui išlaikyti.

Mėginių lapo antraštės ir duomenų dalių pavyzdžius žr. 5 lent ir 6 lent.



PASTABA

Toliau pateiktoje lentelėje nurodytos pavadinimų suteikimo taisyklės reikalingos „VeriSeq NIPT“ analizės programinėje įrangoje siekiant importuoti NGS išvesties failus.

5 lent. NGS 1 parinkties mėginių lapo (antraštės dalies) pavyzdys

[Antraštė]	
IEMFileVersion	4
Tyrejo vardas	
Bandyimo pavadinimas	H9KY7ADXX
Data	
Darbo eiga	GenerateFASTQ
Paskirtis	Tik „HiSeq FASTQ“
Tyrimas	TruSeq LT
Aprašymas	cfDNAHiSeqv1.0
Chemija	Numatytoji
[Skaitymai]	
36	
[Nuostatos]	



PASTABA

Mėginių lapo antraštės dalyje reikia nurodyti tikslių pratekamosios kiuvetės ID (tik didžiosiomis raidėmis) lauke „Experiment Name“ (bandymo pavadinimas), o lauke „Description“ (aprašymas) turi būti „cfDNAHiSeqv1.0“.

6 lent. Pavyzdys: NGS 1 parinkties mėginių lapas (duomenų dalis)

[Duomenys]										
Takelis	Sample_ ID	Sample_ Name	Sample_ Plate	Sample_ Well	I7_ Index_ID	Indeksas	Sample_ Project	Aprašymas	Mėginio tipas	Library_ nM
1	Sample1	Sample1		A1	A002	CGATGT			Testas	80.87774
1	Sample2	Sample2		B1	A005	ACAGTG			Testas	75.3396
1	Sample3	Sample3		C1	A007	CAGATC			Testas	87.35632
1	Sample4	Sample4		D1	A012	CTTGTA			Testas	68.02508
1	Sample5	Sample5		E1	A013	AGTCAA			Testas	97.49216
1	Sample6	Sample6		F1	A014	AGTTCC			Testas	93.20794
1	Sample7	Sample7		G1	A018	GTCCGC			Testas	63.63636
1	Sample8	Sample8		H1	A019	GTGAAA		Nepavykusi biblioteka	Testas	5.2
1	Sample9	Sample9		A2	A001	ATCACG			Testas	84.6395
1	Sample10	Sample10		B2	A003	TTAGGC			Testas	81.5047
1	Sample11	Sample11		C2	A008	ACTTGA			Testas	78.78788
1	Sample12	Sample12		D2	A010	TAGCTT			Testas	83.17659
1	Sample13	Sample13		E2	A020	GTGGCC			Testas	79.62382
1	Sample14	Sample14		F2	A022	CGTACG			Testas	62.59143
1	Control-ID	Control-ID		G2	A025	ACTGAT			Kontrolė	65.20376
2	Sample1	Sample1		A1	A002	CGATGT			Testas	80.87774
2	Sample2	Sample2		B1	A005	ACAGTG			Testas	75.3396
2	Sample3	Sample3		C1	A007	CAGATC			Testas	87.35632
2	Sample4	Sample4		D1	A012	CTTGTA			Testas	68.02508
2	Sample5	Sample5		E1	A013	AGTCAA			Testas	97.49216
2	Sample6	Sample6		F1	A014	AGTTCC			Testas	93.20794
2	Sample7	Sample7		G1	A018	GTCCGC			Testas	63.63636
2	Sample8	Sample8		H1	A019	GTGAAA		Nepavykusi biblioteka	Testas	5.2
2	Sample9	Sample9		A2	A001	ATCACG			Testas	84.6395
2	Sample10	Sample10		B2	A003	TTAGGC			Testas	81.5047
2	Sample11	Sample11		C2	A008	ACTTGA			Testas	78.78788

2	Sample12	Sample12	D2	A010	TAGCTT	Testas	83.17659
2	Sample13	Sample13	E2	A020	GTGGCC	Testas	79.62382
2	Sample14	Sample14	F2	A022	CGTACG	Testas	62.59143
2	Control-ID	Control-ID	G2	A025	ACTGAT	Kontrolė	65.20376

Mėginių lapo patvirtinimo taisyklės, taikomos antraštės ir duomenų dalims, nurodytos 7 lent ir 8 lent. Duomenų kiekis kiekviename mėginių lapo langelyje negali būti didesnis nei 100 simbolių.



PASTABA

Toliau pateiktoje lentelėje nurodytos pavadinimų suteikimo taisyklės reikalingos „VeriSeq NIPT“ analizės programinėje įrangoje siekiant importuoti NGS išvesties failus.

7 lent. Mėginių lapo patvirtinimo taisyklės (antraštės dalis)

Laukas	Būtinai	Patvirtinimo taisyklės
IEMFileVersion	Taip	Turi būti 4.
Tyrėjo vardas	Taip	Patvirtinimo taisyklių nėra.
Bandymo pavadinimas	Taip	Turi būti pratekamosios kiuvetės ID (tik didžiosios raidės). Patvirtinta pagal brūkšninį kodą iš runParameters.xml.
Data	Taip	Patvirtinimo taisyklių nėra.
Darbo eiga	Taip	Patvirtinimo taisyklių nėra.
Paskirtis	Taip	Patvirtinimo taisyklių nėra.
Tyrimas	Taip	Patvirtinimo taisyklių nėra.
Aprašymas	Taip	Turi būti cfDNAHiSeqv1.0
Chemija	Taip	Patvirtinimo taisyklių nėra.

8 lent. NGS 1 parinkties mėginių lapo patvirtinimo taisyklės (duomenų dalis)

Stulpelio pavadinimas	Interpretacija	Klasė	Tinkami įrašai	Būtinai	Patvirtinimo taisyklės
Takelis	Takelis, kuriame yra mėginys	Sveikasis skaičius	1, 2	Taip	Turi būti 1 arba 2.
Sample_ID	Mėginio ID (naudojamas cADAS išvesčiai nurodyti)	Simbolių eilutė	Unikalus kiekvienam indeksui pratekamojoje kiuvetėje	Taip	Pagal konkretų mėginio ID visos mėginių lapo duomenų vertės, išskyrus takelį, turi būti identiškos. Mėginio ID gali sudaryti tik raidiniai ir skaitiniai simboliai a–z, A–Z, 0–9, pabraukimo brūkšniai ir brūkšneliai („-“). Mėginio ID negali būti tarpų. Venkite naudoti kelis pabraukimo brūkšnius ir brūkšnelius vieną šalia kito. Nuo 1.4 versijos Sample_ID (mėginio ID) negali prasidėti 0 (nuliui).
Sample_Name	Mėginio pavadinimas	Simbolių eilutė	Nepaisoma	Ne	Šis laukas gali būti tuščias. Patvirtinimo taisyklės netaikomos. Mėginio pavadinimas sutrumpinamas iki 100 simbolių.
Sample_Plate	Mėginio plokštelės ID	Simbolių eilutė	PXXXX, kur XXXX yra skaičiai	Ne	Šis laukas gali būti tuščias. Patvirtinimo taisyklės netaikomos. Mėginio plokštelės ID sutrumpinamas iki 100 simbolių.

Stulpelio pavadinimas	Interpretacija	Klasė	Tinkami įrašai	Būtinai	Patvirtinimo taisyklės
Sample_Well	Mėginio šulinėlio ID	Simbolių eilutė	A01–A08 B01–B08	Taip	Palaikomi A1 ir A01 formatai. Vertės patvirtinamos pagal taisyklingą išraišką. Pirmasis simbolis A–H, o kiti 2 gali būti 1–12 arba 01–12.
I7_Index_ID	Indekso ID	Simbolių eilutė	A001–A024	Taip	Pirmasis simbolis visada yra A, o kiti 3 yra skaičiai; žr. 12 lent.
Indeksas	Indekso sudėtis	Simbolių eilutė		Taip	Leidžiama bet kuri indekso seka, nurodyta 12 lent. Visas indeksų skaičius konkrečiame takelyje turi būti 8 ar daugiau. Jei jų mažiau nei 8, pranešama apie klaidą. Atliekamas papildomas patvirtinimas siekiant susieti I7_Index_ID ir indekso vertės poras. Pagal konkrečių takelio vertę visos indeksų vertės turi būti unikalios.
Sample_Project	Projekto pavadinimas	Simbolių eilutė	Nepaisoma	Ne	Šis laukas gali būti tuščias.
Aprašymas	Mėginio aprašymas	Simbolių eilutė	Nepaisoma	Ne	Šis laukas gali būti tuščias. Jei šiame lauke yra žodis „failed“ (nepavyko), mėginys pažymimas kaip nesėkmingas ir jo rezultatai nenurodomi.
Mėginio tipas	Mėginio tipas	Simbolių eilutė	„Patient“ (pacientas), „Test“ (testas), „Control“ (kontrolė)	Taip	Turi būti „Patient“ (pacientas), „Test“ (testas) arba „Control“ (kontrolė). (Patvirtinime skiriamos didžiosios ir mažosios raidės.)
Library_nM	Bibliotekos koncentracija	Realusis skaičius	Skaitinės vertės	Taip	Turi būti skaitinė vertė.

Naudotojas gali pašalinti mėginį iš analizės įrašydamas „failed“ (nepavyko) (mažosiomis raidėmis) mėginio aprašymo lauke mėginių lape. Tai padarius, mėginiai stebimi visos darbo eigos metu, kad sekos nustatymas nebūtų atliekamas dėl kokybės kontrolės trikties prieš nustatant seką. Mėginio aprašymo lauke nurodyta vertė įtraukiama į išvesties failą, o duomenų laukuose yra tuščios vertės.

NGS 2 parinktis

NGS 2 parinkties tyrimo sąrankos darbo eigoje nenumatyta galimybė įkelti mėginių lapą rankiniu būdu atliekant tyrimo sąranką. Kai aptinkamas naujas tyrimas, naudotojas įkelia mėginių lapą, pavadintą `samplesheet.csv`, į tyrimo išvesties aplanką tyrimų aplanke analizės serveryje. ATMS siunčia naudotojui el. laišką, kuriame nurodoma, kad buvo aptiktas naujas tyrimas, kai failas `RunParameters.xml` įrašomas tyrimo aplanke analizės serverio kataloge `/data01/runs` ir kai prasideda sekos nustatymas. Mėginių lapą reikia įkelti į tyrimo aplanką prieš sekos nustatymo tyrimo pabaigą (prieš įrašant failą `RTAComplete.txt` tyrimo aplanke).



PASTABA

Jei failo `samplesheet.csv` nėra tyrimo išvesties aplanke, kai įrašomas failas `RTAComplete.txt`, analizės programinė įranga siunčia pranešimą. Žr. 2 skyrius *Sistemos naudojimas*, *Sistemos pranešimai*, 4 lent 9psl..

Kai naudojama NGS 2 parinktis, tas pats mėginių rinkinys tiriamas visoje pratekamojoje kiuvetėje. Takelių numeriai nėra nurodyti mėginių lape. Įvedant mėginio informaciją mėginių lape kiekvienas `Sample_ID` (mėginio ID), šulinėlio ir indekso derinys bus vieną kartą nurodytas mėginių lapo duomenų dalyje. Kiekvienas `Sample_ID` (mėginio ID), šulinėlio ir indekso derinys turi būti unikalus.

Patikrinkite, ar mėginio ID sąsajos su atitinkamais indeksais yra tikslios. Tikslios sąsajos būtinos mėginio vientisumui išlaikyti.

Mėginių lapo antraštės ir duomenų dalių pavyzdžius žr. 9 lent ir 10 lent.



PASTABA

Toliau pateiktoje lentelėje nurodytos pavadinimų suteikimo taisyklės reikalingos „VeriSeq NIPT“ analizės programinėje įrangoje siekiant importuoti NGS išvesties failus.

9 lent. NGS 2 parinkties mėginių lapo (antraštės dalies) pavyzdys

[Antraštė]	
<code>IEMFileVersion</code>	4
Tyrėjo vardas	Vardas ir pavardė
Bandymo pavadinimas	Pratekamosios kiuvetės ID
Data	2014-04-02
Darbo eiga	GenerateFASTQ
Paskirtis	Tik FASTQ
Tyrimas	TruSeq LT
Aprašymas	<code>cfDNANextSeqv1.0</code>
Chemija	Numatytoji
[Skaitymai]	
	36
[Nuostatos]	
<code>ReverseComplement</code>	0



PASTABA

Mėginių lapo antraštės dalyje reikia nurodyti tikslų pratekamosios kiuvetės ID (tik didžiosiomis raidėmis) lauke „Experiment Name“ (bandymo pavadinimas), o lauke „Description“ (aprašymas) turi būti „`cfDNANextSeqv1.0`“.

10 lent. Pavyzdys: NGS 2 parinkties mėginių lapas (duomenų dalis)

[Duomenys]									
Sample_ID	Sample_Name	Sample_Plate	Sample_Well	I7_Index_ID	Indeksas	Sample_Project	Aprašymas	Mėginio tipas	Library_nM
Sample1	Sample1		A2	A002	CGATGT			Testas	53.2
Sample2	Sample2		B2	A005	ACAGTG			Testas	51
Sample3	Sample3		C2	A007	CAGATC			Testas	83.3
Sample4	Sample4		D2	A012	CTTGTA			Testas	79
Sample5	Sample5		E2	A013	AGTCAA			Testas	67
Sample6	Sample6		F2	A014	AGTTCC			Testas	44.3
Sample7	Sample7		G2	A018	GTCCGC			Testas	61.9
Sample8	Sample8		H2	A019	GTGAAA			Testas	62.9
Sample9	Sample9		A4	A001	ATCACG			Testas	76.8
Sample10	Sample10		B4	A003	TTAGGC			Testas	71.1
Sample11	Sample11		C4	A008	ACTTGA		Failed_QC	Testas	5
Sample12	Sample12		D4	A010	TAGCTT			Testas	71.1
Sample13	Sample13		E4	A020	GTGGCC			Testas	55
Sample14	Sample14		F4	A022	CGTACG			Testas	88.6
Control-ID	Control-ID		G4	A025	ACTGAT			Kontrolė	64.7

Mėginių lapo patvirtinimo taisyklės, taikomos duomenų dalims, nurodytos 11 lent. Duomenų kiekis kiekviename mėginių lapo langelyje negali būti didesnis nei 100 simbolių.

11 lent. NGS 2 parinkties mėginių lapo patvirtinimo taisyklės (duomenų dalis)

Stulpelio pavadinimas	Interpretacija	Klasė	Tinkami įrašai	Būtinas	Patvirtinimo taisyklės
Sample_ID	Mėginio ID (naudojamas cADAS išvesčiai nurodyti)	Simbolių eilutė	Unikalus kiekvienam indeksui pratekamojoje kiuvetėje	Taip	Mėginio ID gali sudaryti tik raidiniai ir skaitiniai simboliai a–z, A–Z, 0–9, pabraukimo brūkšniai ir brūkšneliai („-“). Mėginio ID negali būti tarpų. Venkite naudoti kelis pabraukimo brūkšnius ir brūkšnelius vieną šalia kito. Nuo 1.4 versijos Sample_ID (mėginio ID) negali prasidėti 0 (nuliu).
Sample_Name	Mėginio pavadinimas	Simbolių eilutė	Laisvos formos tekstas	Ne	Šis laukas gali būti tuščias. Patvirtinimo taisyklės netaikomos. Pavadinimas sutrumpinamas iki 100 simbolių.
Sample_Plate	Mėginio plokštelės ID	Simbolių eilutė	PXXXX, kur XXXX yra skaičiai	Ne	Šis laukas gali būti tuščias. Patvirtinimo taisyklės netaikomos. Mėginio plokštelės ID sutrumpinamas iki 100 simbolių.
Sample_Well	Mėginio šulinėlio ID	Simbolių eilutė	A01–A08 B01–B08	Taip	Palaikomi A1 ir A01 formatai. Vertės patvirtinamos pagal taisyklingą išraišką. Pirmasis simbolis A–H, o kiti 2 gali būti 1–12 arba 01–12.
I7_Index_ID	Indekso ID	Simbolių eilutė	A001–A024	Taip	Pirmasis simbolis visada yra A, o kiti 3 yra skaičiai.
Indeksas	Indekso sudėtis	Simbolių eilutė		Taip	Leidžiama bet kuri indekso seka, nurodyta 12 lent. Visas indeksų skaičius konkrečiame takelyje turi būti 8 ar daugiau. Jei jų mažiau nei 8, pranešama apie klaidą. Atliekamas papildomas patvirtinimas siekiant susieti I7_Index_ID ir indekso vertės poras. Kiekviename mėginių lape visos indeksų vertės yra unikalios. Jos negali kartotis.
Sample_Project	Projekto pavadinimas	Simbolių eilutė	Nepaisoma	Ne	Šis laukas gali būti tuščias.
Aprašymas	Mėginio aprašymas	Simbolių eilutė	Nepaisoma	Ne	Šis laukas gali būti tuščias. Jei šiame lauke yra žodis „failed“ (nepavyko), mėginys pažymimas kaip nesėkmingas ir jo rezultatai nenurodomi.
Mėginio tipas	Mėginio tipas	Simbolių eilutė	„Patient“ (pacientas), „Test“ (testas), „Control“ (kontrolė)	Taip	Turi būti „Patient“ (pacientas), „Test“ (testas) arba „Control“ (kontrolė). (Patvirtinime skiriamos didžiosios ir mažosios raidės.)

Stulpelio pavadinimas	Interpretacija	Klasė	Tinkami įrašai	Būtinai	Patvirtinimo taisyklės
Library_nM	Bibliotekos koncentracija	Realusis skaičius	Skaitinės vertės	Taip	Turi būti skaitinė vertė.

Naudotojas gali pašalinti mėginį iš analizės įrašydamas „failed“ (nepavyko) (mažosiomis raidėmis) mėginio aprašymo lauke mėginių lape. Tai padarius, mėginiai stebimi visos darbo eigos metu, kad sekos nustatymas nebūtų atliekamas dėl kokybės kontrolės trikties prieš nustatant seką. Mėginio aprašymo lauke nurodyta vertė įtraukiama į išvesties failą, o duomenų laukuose yra tuščios vertės. Tinkamas indeksų vertes žr. [12 lent.](#)

Tinkamos indekso vertės

12 lent. Tinkamos indekso vertės

i7_Index_ID	Indeksas
A001	ATCACG
A002	CGATGT
A003	TTAGGC
A004	TGACCA
A005	ACAGTG
A006	GCCAAT
A007	CAGATC
A008	ACTTGA
A009	GATCAG
A010	TAGCTT
A011	GGCTAC
A012	CTTGTA
A013	AGTCAA
A014	AGTTCC
A015	ATGTCA
A016	CCGTCC
A018	GTCCGC
A019	GTGAAA
A020	GTGGCC
A021	GTTTCG
A022	CGTACG
A023	GAGTGG
A025	ACTGAT
A027	ATTCCT

Išskirstymas ir FASTQ generavimas

NGS 1 parinktis naudoja pasirinktinį išskirstytuvą. NGS 2 parinktis išskirstymui ir FASTQ generavimui naudoja bcl2fastq v2 keitiklį. Abi analizės parinktys pateikia papildomą su mėginių lapu susijusį failą tyrimo aplanke šalia pradinio SampleSheet.csv failo.

- ▶ **SampleSheet.csv** – pradinis naudotojo pateiktas mėginių lapas.
- ▶ **sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt** – failas, ATMS sukuriamas perskaičius naudotojo pateiktą mėginių lapą. Šiame faile yra informacija, perduodama tolesniems duomenų analizės etapams.



PASTABA

Neatidarykite mėginių lapo, kai atliekama analizė, nebent nurodoma tai padaryti mėginių lapo patvirtinimo etapu.

Pakartotinis įtraukimas į analizės eilę



PASTABA

Pakartotinai įtraukti į eilę bandykite TIK gavę nuo serverio el. laišką apie mėginių lapo klaidą.

Galite pakartotinai įtraukti tyrimą į analizės eilę, jei jūsų mėginių lape yra klaidų, kurios neturi įtakos patvirtinimui arba analizei. Toliau aprašytus mėginių lapo pakeitimus atlikite tik gavę nuo serverio el. laišką, kuriame pranešama apie klaidą mėginių lape. Pavyzdžiui:

- ▶ Tuščios eilutės ar stulpeliai
- ▶ Trūksta antraštės eilutės
- ▶ Nepalaikoma darbo eiga Aprašymo antraštės eilutėje
- ▶ Neteisingas pratekamosios kiuvetės brūkšninis kodas

Serveryje esantis tyrimo aplankas

Šioje procedūroje aprašoma, kaip iš naujo įtraukti analizę į eilę, jei jūsų tyrimo aplankas yra serveryje.

- 1 Kompiuteryje, kuris prijungtas prie to paties tinklo kaip analizės serveris, atidarykite „Windows Explorer“ ir raskite katalogą /runs.
- 2 Raskite tyrimo aplanką, kurį norite iš naujo įtraukti į eilę analizei.
- 3 Spustelėkite tyrimo aplanką dešiniuoju pelės mygtuku ir spustelėkite **„Copy“** (kopijuoti).
- 4 Spustelėkite dešiniuoju pelės mygtuku bet kurioje katalogo /runs vietoje, tada spustelėkite **„Paste“** (įklijuoti).
Sukuriama tyrimo aplanko kopija, prie kurios pavadinimo pridedama „ - Copy“. Pavyzdžiui, Run_Folder_Name - Copy.
Sistema el. paštu išsiunčia pranešimą apie neleistinus simbolius aplanko pavadinime, bet galite jo nepaisyti.



PASTABA

Prie kito veiksmo pereikite tik kai tyrimo aplanko kopijavimas bus baigtas, maždaug po 30 minučių.

- 5 Atidarykite nukopijuotą tyrimo aplanką ir panaikinkite šį failą:
sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt
- 6 Dirbdami nukopijuotame tyrimo aplanke redaguokite failą SampleSheet.csv ištaisydami klaidas. Pašalinkite visas tuščias eilutes ar stulpelius.
- 7 Įrašydami mėginio lapą nukopijuotame tyrimo aplanke kaip SampleSheet.csv perrašykite esamą failą. Failo formatas turi likti CSV (kableliais atskirtos vertės). Tam tikri skaičiuoklių programinės įrangos paketai gali pakeisti failo formatą be įspėjimo ir pakeisti kablelius kitais simboliais. Kai įrašysite mėginio lapą nukopijuotame tyrimo aplanke, nebekeiskite jo.
- 8 Norėdami pradėti analizę, pakeiskite nukopijuoto tyrimo aplanko pavadinimą, kaip aprašyta toliau:
 - a Spustelėkite nukopijuotą tyrimo aplanką dešiniuoju pelės mygtuku, tada spustelėkite **„Rename“** (keisti pavadinimą).
 - b Pakeiskite tarpus ir brūkšnelį pabraukimo brūkšniu (_). Pavyzdžiui, Run_Folder_Name_Copy.



PASTABA

Nepridėkite jokių simbolių aplanko pavadinimo priekyje. Pavyzdžiui, Copy_Run_Folder_Name. Simbolių galima pridėti tik tyrimo aplanko pavadinimo gale, naudokite tik raidinius ir skaitinius simbolius a–z, A–Z, 0–9 ir pabraukimo brūkšnius („_“). Naudoti tarpus, brūkšnelius ir kitus simbolius neleidžiama.

Sistema automatiškai analizuoja Run_Folder_Name_Copy.

- 9 Jei sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt nesukuriamas per 30 minučių, žr. *Pakartotinio įtraukimo į analizės eilę trikčių šalinimas 29 psl.*

Atlikto tyrimo kopijavimas į serverį ir įtraukimas į analizės eilę

Šioje procedūroje aprašoma, kaip rankiniu būdu nukopijuoti tyrimo aplanką į serverį ir įtraukti analizę į eilę.



PASTABA

Atlikite šią procedūrą tiksliai laikydamiesi toliau nurodytos tvarkos.

1–5 veiksmus reikia atlikti prieš kopijuojant tyrimo aplanką į analizės serverį.

- 1 Atidarykite tyrimo aplanką ir iškelkite failą **RTAcomplete.txt** iš tyrimo aplanko.
- 2 Panaikinkite šį failą tyrimo aplanke:
sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt
- 3 Jei reikia, redaguokite pradinį mėginių lapą ištaisydami klaidas ar atlikdami kitus pakeitimus. Pašalinkite visas tuščias eilutes ar stulpelius.
- 4 Įrašydami mėginių lapą tyrimo aplanke kaip SampleSheet.csv perrašykite esamą failą. Kai įrašysite mėginio lapą tyrimo aplanke, nebekeiskite jo.
- 5 Įsitikinkite, kad tyrimo aplanke dar nėra failo RTAComplete.txt.
- 6 Spustelėkite tyrimo aplanką dešiniuoju pelės mygtuku ir spustelėkite „Copy“ (kopijuoti).
- 7 Kompiuteryje, kuris prijungtas prie to paties tinklo kaip analizės serveris, atidarykite „Windows Explorer“ ir raskite katalogą /runs.
- 8 Spustelėkite dešiniuoju pelės mygtuku bet kurioje katalogo /runs vietoje, tada spustelėkite „Paste“ (įklijuoti).



PASTABA

Prie kito veiksmo pereikite tik kai tyrimo aplanko kopijavimas bus baigtas, maždaug po 30 minučių ar daugiau, tai priklauso nuo tinklo spartos.

Nepridėkite jokių simbolių aplanko pavadinimo priekyje. Pavyzdžiui, Copy_Run_Folder_Name. Simbolių galima pridėti tik tyrimo aplanko pavadinimo gale, naudokite tik raidinius ir skaitinius simbolius a–z, A–Z, 0–9 ir pabraukimo brūkšnius („_“). Naudoti tarpus, brūkšnelius ir kitus simbolius neleidžiama.

- 9 Norėdami pradėti analizę, nukopijuokite failą **RTAcomplete.txt** vietoje, į kurią jį perkėlėte, ir įklijuokite tyrimo aplanke.
Sistema automatiškai iš naujo analizuoja tyrimo aplanką.
- 10 Jei sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt nesukuriamas per 30 minučių, žr. *Pakartotinio įtraukimo į analizės eilę trikčių šalinimas 29 psl.*

Pakartotinio įtraukimo į analizės eilę trikčių šalinimas

- 1 Patikrinkite, ar gavote el. laišką su pranešimu apie klaidą.
- 2 El. laiške perskaitykite informaciją apie klaidas mėginių lape.
Perskaitykite visą el. laišką, nes problemą nulėmusi klaida gali būti nurodyta pačioje jo apačioje.
- 3 Jei klaidas galite ištaisyti, kartokite pakartotinio įtraukimo į analizės eilę procedūrą, taikomą jūsų tyrimo aplankui.
- 4 Toliau nurodytose situacijose kreipkitės į „Illumina“ techninės pagalbos tarnybą:
 - ▶ Negavote el. laiško su pranešimu apie klaidą.
 - ▶ Analizė neatliekama.
 - ▶ Mėginių lape nėra klaidųPaskambinę nurodykite NIPT16 arba įtraukite jį į el. laiško temos eilutę.

Duomenų archyvavimas ir atsarginių kopijų kūrimas

„Illumina“ rekomenduoja archyvuoti katalogus /data01/runs ir /data01/analysis_output vadovaujantis vietinio IT skyriaus archyvavimo politika. Programinė įranga stebi likusį laisvos disko vietos kiekį kataloge /data01/runs ir el. laišku įspėja naudotojus, jei lieka mažiau nei 200 GB laisvos vietos.

Duomenims saugoti nenaudokite „VeriSeq NIPT“ analizės serverio. Duomenis reikia reguliariai perkelti iš analizės serverio ir archyvuoti.

Tipiniam sekos nustatymo tyrimui, suderinamam su cfDNA analizės darbo eiga, reikia maždaug 11–13 GB naudojant NGS 1 parinktį ir maždaug 11–16 GB naudojant NGS 2 parinktį. Tikrasis aplanko dydis priklauso nuo galutinio klasterių tankio. Serveryje yra daugiau nei 4 TB vietos duomenims saugoti, to pakanka daugiau nei 200 sekos nustatymo tyrimų.

Archyvuokite duomenis tik kai sistema neatlieka jokių analizės ar sekos nustatymo operacijų.

Ataskaitų specifikacijos ir metrikos interpretavimas

cfDNA sekos nustatymo analizės išvesties aplanke yra 2 tekstiniai kableliais atskirtų verčių formato failai. Pirmajame faile, <Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv, yra visi mėginio ir pratekamosios kiuvetės duomenys bei kokybės kontrolės metrika. Šiame faile taip pat nurodoma programinės įrangos, naudotos rezultatams generuoti, versija. Antrajame faile <Run_Folder_Name>_Misindexed_Results.csv lentelėse nurodomas pratekamosios kiuvetės skaitymų skaičius pagal išskirstymo metu nustatytus indeksus, kurie nėra nurodyti mėginių lape. Trečias .txt failas REPORT.Complete.txt yra rezultatų išvesties aplanke. Šiame faile pateikiama informacija apie analizės konfigūraciją, analizės laiką, išvesties failų vietą ir MD5 kontrolinės sumos vertes failuose NIPT_Results.csv ir MISINDEXED_Results.csv. Išsamų kokybės kontrolės metrikos ir kitų verčių sąrašą galima rasti dalyje *Kokybės kontrolės metrika ir viršutinė bei apatinė ribos (NGS 1 parinktis) 35 psl.* ir *Kokybės kontrolės metrika ir viršutinė bei apatinė ribos (NGS 2 parinktis) 39 psl.*



DĖMESIO

Prieš atidarydami ir redaguodami failus nukopijuokite <Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv ir <Run_Folder_Name>_Misindexed_Results.csv į kitą kompiuterį, kad netyčia nepakeistumėte pradinės analizės išvesties.



PASTABA

„Illumina“ rekomenduoja cfDNA analizės / „VeriSeq NIPT“ analizės programinės įrangos sukurtus failus integruoti laboratorijos informacijos valdymo sistemoje, kurioje naudojantis pateikta informacija galima generuoti pacientų ataskaitas, kurias vėliau peržiūrės klinikos laboratorijos specialistai.

13 lent. Nurodytos mėginių lapų anotacijų vertės (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Stulpelio pavadinimas	Mėginių lapo šaltinio laukas
SampleID	Sample_ID
Mėginio tipas	Mėginio tipas
Pratekamosios kiuvetės ID	Bandymo pavadinimas
Indekso ID	I7_Index_ID
Well	Sample_Well
Library_nM	Library_nM

14 lent. Nurodyta vertinimo pagal mėginius metrika (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Stulpelio pavadinimas	Interpretacija
Ratio_13	13 chromosomos santykis
Ratio_18	18 chromosomos santykis
Ratio_21	21 chromosomos santykis
Ratio_X	X chromosomos santykis
Ratio_Y	Y chromosomos santykis
NCV_13	Normalizuota 13 chromosomos vertė (z balas)
NCV_18	Normalizuota 18 chromosomos vertė (z balas)
NCV_21	Normalizuota 21 chromosomos vertė (z balas)
NCV_X	Normalizuota X chromosomos vertė (z balas)
NCV_Y	Normalizuota Y chromosomos vertė (z balas)
FF_Formatted	Tyrimo atkurtas apytikslis cfDNA vaisiaus komponentas. Nurodytas kaip diskretiška suapvalinta procentinė vertė, suteikianti papildomos informacijos apie kiekvieną mėginį.

15 lent. Nurodyta kokybės kontrolės pagal mėginius metrika (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Stulpelio pavadinimas	Interpretacija	Nesėkmės priežastys
QCFlag	Bendrasis kokybės kontrolės sėkmės (0), įspėjimo (1) arba nesėkmės (2) indikatorius	Žr. 20 lent.
QCWarning	Visų mėginio įspėjimo priežasčių (atskirtų simboliu „;“) grandinė	Žr. 20 lent.
QCFailure	Visų mėginio nesėkmės priežasčių (atskirtų simboliu „;“) grandinė	Žr. 20 lent.
Klasteriai	Visas klasterių skaičius takeliuose (Nurodoma pagal pratekamąją kiuvetę)	Mažas / didelis klasterių tankis
TotalReads2Clusters	Atkurtų skaitymų santykis su klasterių skaičiumi takeliuose (Nurodoma pagal pratekamąją kiuvetę)	Sugadinti BCL failai
MaxMisindexedReads2Clusters	Netinkamai indeksuotų takelių klasterių santykis su klasteriais virtualiame takelyje (Nurodoma pagal pratekamąją kiuvetę)	Skaitymai su netikėtais takeliuose aptiktais indeksais
IndexedReads	Visas indeksuotų skaitymų skaičius vienam mėginiui takeliuose	Indekso skaitymo techninės problemos; netinkami mėginiai sekos nustatymo takeliuose
TotalIndexedReads2Clusters	Indeksuotų skaitymų santykis su klasteriais (Nurodoma pagal pratekamąją kiuvetę)	Indekso skaitymo techninės problemos
Tags	Skaitymų, susietų su unikalia vieta genome, skaičius	Didelis PCR arba sekos nustatymo klaidų dažnumas; atkuriant biblioteką įvestas poslinkis
NonExcludedSites	Žymenų skaičius, išskyrus išfiltruotas genomo sritis ir pasikartojančius skaitymus, siejančius su ta pačia vieta	Mažas klasterių skaičius, sekos nustatymo klaidos, mažas bibliotekos sudėtingumas, paprastai galima atkurti tiriant pakartotinai
NonExcludedSites2Tags	NonExcludedSites santykis su žymenomis	Bibliotekos sudėtingumas
Tags2IndexedReads	Žymenų santykis su indeksuotais skaitymais	Didesnis, nei tikėtasi, skaitymų skaičius neatitinka genomo
PerfectMatchTags2Tags	Tinkamai susietų žymenų santykis su visomis žymenomis	Didelis sekos nustatymo arba PCR klaidų dažnumas
GCBias	Liekamasis GC poslinkis skaitymo skirstinyje po korekcijos	Mėginių ėmimo / tvarkymo triktis prieš analizę; sekos nustatymo artefaktai
GCR2	GC korekcijos R2 (variacijos procentas, kurį paaiškina GC korekcija)	
NCD_13	13 chromosomos vardiklių tikimybės balas	Netikėtas 13 chromosomos vardiklio chromosomų profilis
NCD_18	18 chromosomos vardiklių tikimybės balas	Netikėtas 18 chromosomos vardiklio chromosomų profilis
NCD_21	21 chromosomos vardiklių tikimybės balas	Netikėtas 21 chromosomos vardiklio chromosomų profilis
NCD_X	X chromosomos vardiklių tikimybės balas	Netikėtas X chromosomos vardiklio chromosomų profilis
NCD_Y	Viso chromosomos profilio tikimybės balas	Netikėtas visų chromosomų profilis

16 lent. Nurodyta vertinimo pagal mėginius metrika (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Stulpelio pavadinimas	Interpretacija
Chr1, ..., Chr22, ChrX, ChrY	Visas NonExcludedSites, naudotų analizuojant atitinkamą chromosomą, skaičius (sveikasis)
Chr1_Coverage, ..., Chr22_Coverage, ChrX_Coverage, ChrY_Coverage	Normalizuota kiekvienos chromosomos aprėptis, naudota vertinant chromosomų santykius

17 lent. Nurodyta vertinimo pagal partiją metrika (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Stulpelio pavadinimas	Interpretacija
Median_13, Median_18, Median_21, Median_X, Median_Y	Spėjimų diploidinių mėginių chromosomų santykių partijos mediana Pastaba: X chromosoma ir Y chromosoma grindžiamos tik spėjimai moteriškais mėginiais
Stdev_13, Stdev_18, Stdev_21, Stdev_X, Stdev_Y	Spėjimų diploidinių mėginių chromosomų santykių partijos standartinis nuokrypis Pastaba: X chromosoma ir Y chromosoma grindžiamos tik spėjimai moteriškais mėginiais

18 lent. Nurodyti papildomi laukai pagal mėginius iš mėginių lapo (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Stulpelio pavadinimas	Mėginių lapo šaltinio laukas
SampleProject	Sample_Project
Aprašymas	Aprašymas
Indeksas	indeksas

19 lent. Pagal pratekamąją kiuvetę nurodyti netinkamai indeksuoti skaitymai (<Run_Folder_Name>_Misindexed_Results.csv)

Stulpelio pavadinimas	Interpretacija
Flow Cell	Pratekamosios kiuvetės ID
Takelis	Takelio ID
Indekso ID	Indekso ID Pastaba: indekso ID A000 yra bet kokia seka, išskyrus 24 indeksus, nurodytus 12 lent
IndexedReads	Indeksuotų skaitymų pratekamojoje kiuvetėje / takelyje / indekse skaičius

ATMS veikimo tikrinimas

Ijungus sistemą, automatiškai paleidžiamas foninis ATMS procesas, stebintis sekos nustatymo ir analizės tyrimus.

Norėdami įsitikinti, kad ATMS veikia:

- 1 Įvykdę šią komandą prisijunkite prie analizės serverio kaip sbsuser (tariant, kad \$HOSTNAME yra serverio vardas, nustatytas pradinio diegimo metu):
`ssh -l sbsuser $HOSTNAME`
- 2 Įvykdę šią komandą patikrinkite ATMS procesą:
`ps aux | grep jsvc`

Jei išvestyje yra jsvc.exec, ATMS procesas veikia foniniu režimu. Yra 3 išvesties eilutės: 1) vienoje nurodomas egzempliorius, veikiantis iš šakninio naudotojo, 2) vienoje nurodomas egzempliorius iš ATMS naudotojo ir 3) vienoje nurodomas egzempliorius, veikiantis iš bet kokio naudotojo, kurio paleista komanda yra vykdoma.

Jei ATMS procesas neveikia, ATMS nestebės ir neapdoros naujų tyrimų, kol tarnyba bus paleista iš naujo. Kompiuterio išjungimas arba paleidimas iš naujo automatiškai suaktyvina tarnybos paleidimą iš naujo.

„Illumina“ priežiūros inžinierius gali paleisti tarnybą iš naujo naudodamasis šakninėmis teisėmis kompiuteryje.



PASTABA

Jei įranga netikėtai išjungžiama, sistema bando paleisti ATMS iš naujo savarankiškai.

Kokybės kontrolės metrika

Kokybės kontrolės metrika ir viršutinė bei apatinė ribos (NGS 1 parinktis)	35
Kokybės kontrolės metrika ir viršutinė bei apatinė ribos (NGS 2 parinktis)	39

Kokybės kontrolės metrika ir viršutinė bei apatinė ribos (NGS 1 parinktis)

20 lent. NGS instrumento 1 parinktis: dvi pratekamosios kiuvetės padėtys, 2 takelių pratekamoji kiuvetė – kokybės kontrolės metrika, viršutinė ir apatinė ribos, nesėkmės arba įspėjimo nuorodos, numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas ir galimos priežastys.

Kategorija	Metrika	Apatinė Riba	Viršutinė Riba	Nesėkmė / Įspėjimas	Mėginio Tipas	Numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas	Galimos Priežastys
KK skaičiavimas	Klasteriai	250 000 000	450 000 000	Įspėjimas		<5 % pratekamųjų kiuvečių	Mažas (labiau tikėtinas) arba didelis (labai netikėtinas) klasterių tankis.
KK skaičiavimas	Reads2Clusters	0,95	1	Įspėjimas		<1 % pratekamųjų kiuvečių	Programinei įrangai nepavyko atkurti daugiau nei 5 % instrumente įrašytų skaitymų.
KK skaičiavimas	MaxMisindexed-Reads2Clusters	0	0,0002	Įspėjimas		<0,1 %	
KK skaičiavimas	TotalIndexed-Reads2Clusters	0,7	1	Įspėjimas		<0,1 %	Indeksavimo sekos triktis.
KK skaičiavimas	NonExcludedSites	8 000 000	100 000 000	Nesėkmė		<=2 %	Nekokybiška biblioteka arba netinkamas kiekybinis bibliotekos įvertinimas; mažas klasterių skaičius; galimai įmanoma atkurti pakartotinai ištyrus plazmą.
KK skaičiavimas	NonExcluded-Sites2Tags	0,8	1	Įspėjimas		<0,1 %	Nepakankama bibliotekos įvairovė; galimai įmanoma atkurti pakartotinai ištyrus plazmą.
KK skaičiavimas	Tags2Reads	0,75	0,9	Įspėjimas		<0,1 %	Didelis klaidų dažnumas atliekant sekos nustatymą arba PCR; galimai įmanoma atkurti pakartotinai nustatant tos pačios bibliotekos seką.
KK skaičiavimas	PerfectMatch-Tags2Tags	0,7	1	Įspėjimas		1 %	Didelis klaidų dažnumas atliekant sekos nustatymą arba PCR; galimai įmanoma atkurti pakartotinai nustatant tos pačios bibliotekos seką.

Kategorija	Metrika	Apatinė Riba	Viršutinė Riba	Nesėkmė / Įspėjimas	Mėginio Tipas	Numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas	Galimos Priežastys
Chromosomų santykių mediana	Median_13	0,1986891	0,2012977	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis / mažas medianinis chromosomų santykis visoje pratekamojoje kiuvetėje; didelis neištaisytos partijos poveikis, susijęs su išgavimu arba bibliotekos partija. Bandykite pašalinti problemą pakartotinai apdorodami mėginius iš plazmos.
Chromosomų santykių mediana	Median_18	0,2483363	0,2517526	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis / mažas medianinis chromosomų santykis visoje pratekamojoje kiuvetėje; didelis neištaisytos partijos poveikis, susijęs su išgavimu arba bibliotekos partija. Bandykite pašalinti problemą pakartotinai apdorodami mėginius iš plazmos.
Chromosomų santykių mediana	Median_21	0,2476093	0,2524342	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis / mažas medianinis chromosomų santykis visoje pratekamojoje kiuvetėje; didelis neištaisytos partijos poveikis, susijęs su išgavimu arba bibliotekos partija. Bandykite pašalinti problemą pakartotinai apdorodami mėginius iš plazmos.
Chromosomų santykių mediana	Median_X	0,3260502	0,3396256	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis / mažas medianinis chromosomų santykis visoje pratekamojoje kiuvetėje; didelis neištaisytos partijos poveikis, susijęs su išgavimu arba bibliotekos partija. Bandykite pašalinti problemą pakartotinai apdorodami mėginius iš plazmos.
Chromosomų santykių mediana	Median_Y	0	1,47E-08	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis / mažas medianinis chromosomų santykis visoje pratekamojoje kiuvetėje; didelis neištaisytos partijos poveikis, susijęs su išgavimu arba bibliotekos partija. Bandykite pašalinti problemą pakartotinai apdorodami mėginius iš plazmos.
Standartinis chromosomų santykių nuokrypis	Stdev_13	0	6,73E-04	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis chromosomų santykių standartinis nuokrypis, kuris rodo papildomus anksčiau neaptikto variantiškumo šaltinius; stebėkite tendencijas laikui bėgant.

Kategorija	Metrika	Apatinė Riba	Viršutinė Riba	Nesėkmė / Įspėjimas	Mėginio Tipas	Numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas	Galimos Priežastys
Standartinis chromosomų santykių nuokrypis	Stdev_18	0	1,37E-03	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis chromosomų santykių standartinis nuokrypis, kuris rodo papildomus anksčiau neaptikto variantiškumo šaltinius; stebėkite tendencijas laikui bėgant.
Standartinis chromosomų santykių nuokrypis	Stdev_21	0	1,33E-03	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis chromosomų santykių standartinis nuokrypis, kuris rodo papildomus anksčiau neaptikto variantiškumo šaltinius; stebėkite tendencijas laikui bėgant.
Standartinis chromosomų santykių nuokrypis	Stdev_X	0	3,27E-03	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis chromosomų santykių standartinis nuokrypis, kuris rodo papildomus anksčiau neaptikto variantiškumo šaltinius; stebėkite tendencijas laikui bėgant.
Standartinis chromosomų santykių nuokrypis	Stdev_Y	0	4,94E-09	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis chromosomų santykių standartinis nuokrypis, kuris rodo papildomus anksčiau neaptikto variantiškumo šaltinius; stebėkite tendencijas laikui bėgant.
Chromosomų vardiklių tikimybės balas	NCD_13	-50	1000	Nesėkmė		<0,1 %	Netikėtas vardiklio (atskaitos) chromosomų atvaizdavimas; mažai tikėtina, kad pavyks pašalinti problemą tiriant mėginį iš naujo; siūloma nurodyti „duomenys nepatenka į numatytą diapazoną“.
Chromosomų vardiklių tikimybės balas	NCD_18	-50	1000	Nesėkmė		<0,1 %	Netikėtas vardiklio (atskaitos) chromosomų atvaizdavimas; mažai tikėtina, kad pavyks pašalinti problemą tiriant mėginį iš naujo; siūloma nurodyti „duomenys nepatenka į numatytą diapazoną“.
Chromosomų vardiklių tikimybės balas	NCD_21	-50	1000	Nesėkmė		<0,1 %	Netikėtas vardiklio (atskaitos) chromosomų atvaizdavimas; mažai tikėtina, kad pavyks pašalinti problemą tiriant mėginį iš naujo; siūloma nurodyti „duomenys nepatenka į numatytą diapazoną“.
Chromosomų vardiklių tikimybės balas	NCD_X	-50	1000	Nesėkmė		<0,1 %	Netikėtas vardiklio (atskaitos) chromosomų atvaizdavimas; mažai tikėtina, kad pavyks pašalinti problemą tiriant mėginį iš naujo; siūloma nurodyti „duomenys nepatenka į numatytą diapazoną“.

Kategorija	Metrika	Apatinė Riba	Viršutinė Riba	Nesėkmė / Įspėjimas	Mėginio Tipas	Numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas	Galimos Priežastys
Chromosomų vardiklių tikimybės balas	NCD_Y	-100	1000	Nesėkmė		<0,5 %	Netikėtas chromosomų atvaizdavimas kažkurioje geno vietoje; mažai tikėtina, kad pavyks pašalinti problemą tiriant mėginį iš naujo; siūloma nurodyti „duomenys nepatenka į numatytą diapazoną“.
Kontrolinių mėginių NCV	NCV_13	-5	4	Įspėjimas	Kontrolė		Kontrolinių NCV ribos (be monosomijos, be trisomijos).
Kontrolinių mėginių NCV	NCV_18	-5	4	Įspėjimas	Kontrolė		Kontrolinių NCV ribos (be monosomijos, be trisomijos).
Kontrolinių mėginių NCV	NCV_21	-5	4	Įspėjimas	Kontrolė		Kontrolinių NCV ribos (be monosomijos, be trisomijos).
Tyrimo mėginių NCV	NCV_13	-5	200	Įspėjimas	Testas		Tyrimo mėginių NCV ribos (be monosomijos, vaisiaus frakcija patenka į (platų) numatytą diapazoną).
Tyrimo mėginių NCV	NCV_18	-5	200	Įspėjimas	Testas		Tyrimo mėginių NCV ribos (be monosomijos, vaisiaus frakcija patenka į (platų) numatytą diapazoną).
Tyrimo mėginių NCV	NCV_21	-5	200	Įspėjimas	Testas		Tyrimo mėginių NCV ribos (be monosomijos, vaisiaus frakcija patenka į (platų) numatytą diapazoną).
Tyrimo mėginių NCV	NCV_X	-100	200	Įspėjimas	Testas		Tyrimo mėginių NCV ribos (be monosomijos, vaisiaus frakcija patenka į (platų) numatytą diapazoną).
Tyrimo mėginių NCV	NCV_Y	-6	2000	Įspėjimas	Testas		Tyrimo mėginių NCV ribos (be monosomijos, vaisiaus frakcija patenka į (platų) numatytą diapazoną).
Kontrolinių mėginių GC poslinkis	GCBias	-0,5	0,5	Įspėjimas	Kontrolė		Likęs GC poslinkis po GC koregavimo (numatoma, kad bus centruotas aplink 0, tik informacinis).
Tyrimo mėginių GC poslinkis	GCBias	-0,5	0,5	Įspėjimas	Testas		Likęs GC poslinkis po GC koregavimo (numatoma, kad bus centruotas aplink 0, tik informacinis).
Kontrolinių mėginių GC R2	GC R2	0	0,9999	Įspėjimas	Kontrolė		R ² , susijęs su GC korekcija (tik informacinis).
Tyrimo mėginių GC R2	GC R2	0	0,9999	Įspėjimas	Testas		R ² , susijęs su GC korekcija (tik informacinis).

Kokybės kontrolės metrika ir viršutinė bei apatinė ribos (NGS 2 parinktis)

21 lent. NGS instrumento 2 parinktis: viena pratekamosios kiuvetės padėtis, 4 takelių pratekamoji kiuvetė – kokybės kontrolės metrika, viršutinė ir apatinė ribos, nesėkmės arba įspėjimo nuorodos, numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas ir galimos priežastys.

Kategorija	Metrika	Apatinė Riba	Viršutinė Riba	Nesėkmė / Įspėjimas	Mėginio Tipas	Numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas	Galimos Priežastys
KK skaičiavimas	Klasteriai	300 000 000	800 000 000	Įspėjimas		<5 % pratekamųjų kiuvečių	Mažas (labiau tikėtinas) arba didelis (labai netikėtinas) klasterių tankis.
KK skaičiavimas	MaxMisindexed-Reads2Clusters	0	0,0002	Įspėjimas		<0,1 %	
KK skaičiavimas	TotalIndexed-Reads2Clusters	0,7	1	Įspėjimas		<0,1 %	Indeksavimo sekos triktis.
KK skaičiavimas	NonExcludedSites	8 000 000	100 000 000	Nesėkmė		<=2 %	Nekokybiška biblioteka arba netinkamas kiekybinis bibliotekos įvertinimas; mažas klasterių skaičius; galimai įmanoma atkurti pakartotinai ištyrus plazmą.
KK skaičiavimas	NonExcluded-Sites2Tags	0,8	1	Įspėjimas		<0,1 %	Nepakankama bibliotekos įvairovė; galimai įmanoma atkurti pakartotinai ištyrus plazmą.
KK skaičiavimas	Tags2Reads	0,75	0,9	Įspėjimas		<0,1 %	Didelis klaidų dažnumas atliekant sekos nustatymą arba PCR; galimai įmanoma atkurti pakartotinai nustatant tos pačios bibliotekos seką.
KK skaičiavimas	PerfectMatch-Tags2Tags	0,7	1	Įspėjimas		1 %	Didelis klaidų dažnumas atliekant sekos nustatymą arba PCR; galimai įmanoma atkurti pakartotinai nustatant tos pačios bibliotekos seką.
Chromosomų santykių mediana	Median_13	0,1991238	0,2008629	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis / mažas medianinis chromosomų santykis visoje pratekamojoje kiuvetėje; didelis neištaisytos partijos poveikis, susijęs su išgavimu arba bibliotekos partija. Bandykite pašalinti problemą pakartotinai apdorodami mėginius iš plazmos.

Kategorija	Metrika	Apatinė Riba	Viršutinė Riba	Nesėkmė / Įspėjimas	Mėginio Tipas	Numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas	Galimos Priežastys
Chromosomų santykių mediana	Median_18	0,2489057	0,2511832	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis / mažas medianinis chromosomų santykis visoje pratekamojoje kiuvetėje; didelis neištaisytos partijos poveikis, susijęs su išgavimu arba bibliotekos partija. Bandykite pašalinti problemą pakartotinai apdorodami mėginius iš plazmos.
Chromosomų santykių mediana	Median_21	0,2484135	0,25163	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis / mažas medianinis chromosomų santykis visoje pratekamojoje kiuvetėje; didelis neištaisytos partijos poveikis, susijęs su išgavimu arba bibliotekos partija. Bandykite pašalinti problemą pakartotinai apdorodami mėginius iš plazmos.
Chromosomų santykių mediana	Median_X	0,329444	0,3362317	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis / mažas medianinis chromosomų santykis visoje pratekamojoje kiuvetėje; didelis neištaisytos partijos poveikis, susijęs su išgavimu arba bibliotekos partija. Bandykite pašalinti problemą pakartotinai apdorodami mėginius iš plazmos.
Chromosomų santykių mediana	Median_Y	0	1,236665e-08	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis / mažas medianinis chromosomų santykis visoje pratekamojoje kiuvetėje; didelis neištaisytos partijos poveikis, susijęs su išgavimu arba bibliotekos partija. Bandykite pašalinti problemą pakartotinai apdorodami mėginius iš plazmos.
Standartinis chromosomų santykių nuokrypis	Stdev_13	0	0,0008695377	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis chromosomų santykių standartinis nuokrypis, kuris rodo papildomus anksčiau neaptikto variantiškumo šaltinius; stebėkite tendencijas laikui bėgant.

Kategorija	Metrika	Apatinė Riba	Viršutinė Riba	Nesėkmė / Įspėjimas	Mėginio Tipas	Numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas	Galimos Priežastys
Standartinis chromosomų santykių nuokrypis	Stdev_18	0	0,00113876	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis chromosomų santykių standartinis nuokrypis, kuris rodo papildomus anksčiau neaptikto variantiškumo šaltinius; stebėkite tendencijas laikui bėgant.
Standartinis chromosomų santykių nuokrypis	Stdev_21	0	0,001608292	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis chromosomų santykių standartinis nuokrypis, kuris rodo papildomus anksčiau neaptikto variantiškumo šaltinius; stebėkite tendencijas laikui bėgant.
Standartinis chromosomų santykių nuokrypis	Stdev_X	0	0,005090769	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis chromosomų santykių standartinis nuokrypis, kuris rodo papildomus anksčiau neaptikto variantiškumo šaltinius; stebėkite tendencijas laikui bėgant.
Standartinis chromosomų santykių nuokrypis	Stdev_Y	0	3,454837e-09	Įspėjimas		<0,1 %	Netikėtai didelis chromosomų santykių standartinis nuokrypis, kuris rodo papildomus anksčiau neaptikto variantiškumo šaltinius; stebėkite tendencijas laikui bėgant.
Chromosomų vardiklių tikimybės balas	NCD_13	-50	1000	Nesėkmė		<0,1 %	Netikėtas vardiklio (atskaitos) chromosomų atvaizdavimas; mažai tikėtina, kad pavyks pašalinti problemą tiriant mėginį iš naujo; siūloma nurodyti „duomenys nepatenka į numatytą diapazoną“.
Chromosomų vardiklių tikimybės balas	NCD_18	-50	1000	Nesėkmė		<0,1 %	Netikėtas vardiklio (atskaitos) chromosomų atvaizdavimas; mažai tikėtina, kad pavyks pašalinti problemą tiriant mėginį iš naujo; siūloma nurodyti „duomenys nepatenka į numatytą diapazoną“.
Chromosomų vardiklių tikimybės balas	NCD_21	-50	1000	Nesėkmė		<0,1 %	Netikėtas vardiklio (atskaitos) chromosomų atvaizdavimas; mažai tikėtina, kad pavyks pašalinti problemą tiriant mėginį iš naujo; siūloma nurodyti „duomenys nepatenka į numatytą diapazoną“.

Kategorija	Metrika	Apatinė Riba	Viršutinė Riba	Nesėkmė / Įspėjimas	Mėginio Tipas	Numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas	Galimos Priežastys
Chromosomų vardiklių tikimybės balas	NCD_X	-50	1000	Nesėkmė		<0,1 %	Netikėtas vardiklio (atskaitos) chromosomų atvaizdavimas; mažai tikėtina, kad pavyks pašalinti problemą tiriant mėginį iš naujo; siūloma nurodyti „duomenys nepatenka į numatytą diapazoną“.
Chromosomų vardiklių tikimybės balas	NCD_Y	-100	1000	Nesėkmė		<0,5 %	Netikėtas chromosomų atvaizdavimas kažkuriame geno vietoje; mažai tikėtina, kad pavyks pašalinti problemą tiriant mėginį iš naujo; siūloma nurodyti „duomenys nepatenka į numatytą diapazoną“.
Kontrolinių mėginių NCV	NCV_13	-5	4	Įspėjimas	Kontrolė		Kontrolinių NCV ribos (be monosomijos, be trisomijos).
Kontrolinių mėginių NCV	NCV_18	-5	4	Įspėjimas	Kontrolė		Kontrolinių NCV ribos (be monosomijos, be trisomijos).
Kontrolinių mėginių NCV	NCV_21	-5	4	Įspėjimas	Kontrolė		Kontrolinių NCV ribos (be monosomijos, be trisomijos).
Tyrimo mėginių NCV	NCV_13	-5	200	Įspėjimas	Testas		Tyrimo mėginių NCV ribos (be monosomijos, vaisiaus frakcija patenka į (platų) numatytą diapazoną).
Tyrimo mėginių NCV	NCV_18	-5	200	Įspėjimas	Testas		Tyrimo mėginių NCV ribos (be monosomijos, vaisiaus frakcija patenka į (platų) numatytą diapazoną).
Tyrimo mėginių NCV	NCV_21	-5	200	Įspėjimas	Testas		Tyrimo mėginių NCV ribos (be monosomijos, vaisiaus frakcija patenka į (platų) numatytą diapazoną).
Tyrimo mėginių NCV	NCV_X	-100	200	Įspėjimas	Testas		Tyrimo mėginių NCV ribos (be monosomijos, vaisiaus frakcija patenka į (platų) numatytą diapazoną).
Tyrimo mėginių NCV	NCV_Y	-6	2000	Įspėjimas	Testas		Tyrimo mėginių NCV ribos (be monosomijos, vaisiaus frakcija patenka į (platų) numatytą diapazoną).
Kontrolinių mėginių GC poslinkis	GCBias	-0,5	0,5	Įspėjimas	Kontrolė		Likęs GC poslinkis po GC koregavimo (numatoma, kad bus centruotas aplink 0, tik informacinis).

Kategorija	Metrika	Apatinė Riba	Viršutinė Riba	Nesėkmė / Įspėjimas	Mėginio Tipas	Numatomas nesėkmių / įspėjimų dažnumas	Galimos Priežastys
Tyrimo mėginių GC poslinkis	GCBias	-0,5	0,5	Įspėjimas	Testas		Likęs GC poslinkis po GC koregavimo (numatoma, kad bus centruotas aplink 0, tik informacinis).
Kontrolinių mėginių GC R2	GC R2	0	0,9999	Įspėjimas	Kontrolė		R ² , susijęs su GC korekcija (tik informacinis).
Tyrimo mėginių GC R2	GC R2	0	0,9999	Įspėjimas	Testas		R ² , susijęs su GC korekcija (tik informacinis).

Metodų palyginimo tyrimas

Metodų palyginimo duomenys44

Metodų palyginimo duomenys

Šiam tyrimui anksčiau paruoštos 105 plazmos mėginių bibliotekos buvo pakartotinai įsimintos ir apdorotos naudojant „VeriSeq NIPT“ analizės programinę įrangą (16 mėginių). Šie mėginiai anksčiau buvo tirti „Verifi®“ tyrime ir buvo suskaidyti į 7 bibliotekas, kurių kiekviena buvo sudarytas iš 14 motinos plazmos mėginių, 1 rinkinio teigiamo kontrolinio motinos mėginio ir kontrolės be šablono arba NTC. 22 lent pavaizduota kiekvienos bibliotekos mėginių sudėtis.

Visi 98 individualūs nekontroliuojami mėginiai praėjo KK ir buvo ištirti, kad atitiktų „Verifi“ rezultatus. Kiekvienas mėginys buvo klasifikuotas pagal trisomijos 13/18/21 NCV vertes (naudojant NCV slenkstį = 4), Y chromosomos buvimą (naudojant NCV slenkstį = 10) ir monosomijos X (naudojant slenkstį NCV_X = -4 ir Y chromosomos nėra). Bendra „VeriSeq NIPT“ ir „Verifi“ susitarimų procentinė dalis pateikta 23 lent.

Pastebėti du neatitikimai. Pirmasis neatitikimas buvo pastebėtas 13 chromosomoje, kuri pagal „Verifi“ tyrimą buvo klasifikuota kaip 13 trisomija, o „VeriSeq NIPT“ analizės programinės įrangos (16 mėginių) klasifikuojama kaip neigiama. Klinikinė informacija apie šį mėginį vėliau buvo pateikta kaip 13 trisomijos neigiama. Kitas pastebimas neatitikimas buvo su 18 trisomija ir klinikinės informacijos apie šį mėginį nebuvo.

22 lent. Mėginių pasiskirstymas bibliotekose

Biblioteka	Kontrolė	MX	T13	T18	T21	Nepaveikta
01	1				2	12
02	1			1	1	12
03	1	1			1	12
04	1		1	1	1	11
05	1	1			1	12
06	1		1		1	12
07	1				1	13
Iš viso	7	2	2	2	8	84

23 lent. Bendros procentinės dalies susitarimas tarp „VeriSeq NIPT“ ir „Verifi“

	Bendras susitarimas
13 klasė	98,98 %
18 klasė	98,98 %
21 klasė	100 %
Y chromosoma yra / nėra	100 %
Klasės monosomija X	100 %

Techninė pagalba

Dėl techninės pagalbos kreipkitės į „Illumina“ techninės pagalbos tarnybą.

Interneto svetainė www.illumina.com
El. paštas techsupport@illumina.com

„Illumina“ klientų aptarnavimo telefono numeriai

Regionas	Nemokamas telefono numeris	Regionas
Šiaurės Amerika	+1.800.809.4566	
Airija	+353 1800936608	+353 016950506
Australija	+1.800.775.688	
Austrija	+43 800006249	+43 19286540
Belgija	+32 80077160	+32 34002973
Danija	+45 80820183	+45 89871156
Honkongas	800960230	
Ispanija	+34 911899417	+34 800300143
Italija	+39 800985513	+39 236003759
Japonija	0800.111.5011	
Jungtinė Karalystė	+44 8000126019	+44 2073057197
Kinija	400 066 5835	
Naujoji Zelandija	0800.451.650	
Norvegija	+47 800 16836	+47 21939693
Nyderlandai	+31 8000222493	+31 207132960
Prancūzija	+33 805102193	+33 170770446
Singapūras	+1.800.579.2745	
Suomija	+358 800918363	+358 974790110
Švedija	+46 850619671	+46 200883979
Šveicarija	+41 565800000	+41 800200442
Taivanas	00806651752	
Vokietija	+49 8001014940	+49 8938035677
Kitos šalys	+44 1799 534000	

Saugos duomenų lapai (SDL) prieinami „Illumina“ interneto svetainėje support.illumina.com/sds.html.

Produkto dokumentaciją PDF formatu galima atsisiųsti iš „Illumina“ interneto svetainės. Apsilankykite support.illumina.com, pasirinkite produktą, tada pasirinkite **Documentation & Literature** (dokumentacija ir literatūra).



„Illumina“

5200 Illumina Way

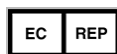
San Diego, California 92122 JAV

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (ne Šiaurės Amerikoje)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



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



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

NAUDOTI IN VITRO DIAGNOSTIKAI

© 2020 „Illumina, Inc.“. Visos teisės saugomos.

illumina®